

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

Trabajo Final de Graduación presentado a la Escuela de Tecnología de Alimentos para optar por el
grado de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos

**Desarrollo y evaluación de la percepción de un jarabe de microalga espirulina
(*Arthrospira platensis*) con potenciales aplicaciones caseras e industriales**

Elaborado por:

Marcelo Jiménez Rodríguez

Carné: B63667

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

Junio de 2023

TRIBUNAL EXAMINADOR

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

Elaborado por:

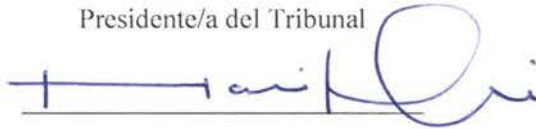
Marcelo Jiménez Rodríguez

Aprobado por:



M. Sc. Ana Isabel Incer González.

Presidente/a del Tribunal



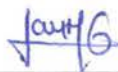
Mdes. Pilar Fallas Rodríguez.

Directora



Dra. Ana Mercedes Pérez Carvajal.

Profesora asesora



M. Sc. Laura Murillo González.

Profesora asesora



Licda. Ana María Quirós Blanco.

Profesor(a) designado(a)

DEDICATORIA

*A mis padres, mi hermano y hermana
su apoyo y cariño han sido fundamentales
para alcanzar esta meta.*

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mi papá Gregorio, y mi mamá Marielos. Su trabajo incansable hizo de mí la persona que soy hoy en día. Quiero agradecerles por estar en cada momento del camino, por apoyarme y acompañarme durante todos los años que ha tomado llegar a este punto, sin ustedes nada de esto hubiera sido posible. Agradezco cada sacrificio que han hecho desde el día uno, para asegurarse que a ninguno de nosotros nos falte nada, y poder alcanzar cada uno de nuestros sueños y metas. Realmente son padres ejemplares, los amo mucho y no los cambiaría por nadie en el mundo. A mi hermano, Luis, le agradezco cada consejo y momento de acompañamiento que me ha dado. Tenerlo cómo un amigo más ha sido todo un privilegio, admiro mucho su forma de ser y espero poder tener siempre a ese compañero que ha estado a mi lado desde el día que nací. Lo admiro mucho por ser siempre tan auténtico, gracias por enseñarme que atreverme y luchar por lo que quiero es realmente el camino que debo seguir. Muchas gracias por todo, estoy por siempre en deuda por todo el cariño, consejos y cada momento juntos, espero que sean muchos más. A mi hermanita, Ana María, le agradezco cada muestra de cariño que me ha dado. Gracias por acompañarme y motivarme a seguir adelante, ser una compañera incondicional y la persona que me recuerda siempre que sin importar que esté pasando, siempre debo encontrar un espacio para la diversión y cariño en mi vida. A los cuatro les agradezco por amarme y acompañarme siempre.

Le agradezco también a mis profesoras del comité asesor. Empezando por la profe Pilar, que sin su guía y acompañamiento esta tesis no hubiera sido posible. Le agradezco mucho poder ayudarme a llevar a cabo esta idea un poco distinta, a materializarse en este trabajo de ya un largo tiempo. Le agradezco cada consejo, de la carrera y para la vida, cada uno de ellos los llevaré siempre conmigo. Por último, gracias por cada palabra de apoyo y motivación, no ha sido un camino fácil, ni corto, pero por dicha ya llegamos acá. Muchas gracias también a Doña Ana. Realmente nada de esto hubiera sido posible sin su guía a lo largo de toda esta tesis. Le agradezco de todo corazón dejarme trabajar en este proyecto, y dejarme llevar a cabo la tesis de la forma cómo se ha hecho, y también muchas gracias por cada consejo que me ha dado, sin duda me han hecho un mejor estudiante y una mejor persona. Y por último a la profe Laura, le agradezco también todo el apoyo durante este largo

proceso. Muchas gracias por acompañarme desde Guanacaste, y hacer todo lo posible porque este proyecto terminara de la mejor manera posible. A las tres les agradezco de todo corazón la paciencia que han tenido, y el compromiso con el proyecto y conmigo, es algo que recordaré siempre.

Quiero agradecer a todas las personas que de una u otra forma estuvieron involucrados en el proyecto, y me dieron su apoyo o consejo cuando no era su obligación. Le agradezco mucho a los profes Óscar, Eric, Ileana, Elba, Manuel, Jose, Jessie, Natalia, a Vanny, Graciela, Carolina por su ayuda en distintos momentos. Un agradecimiento especial también a las personas que me asistieron durante el desarrollo de los experimentos y pruebas, a Evelyn, Ximena, Pablo y Tania, gran parte de este trabajo no sería posible sin la ayuda de ustedes cuatro. Gracias a los personeros del CITA y de la Escuela de Tecnología de Alimentos, Abel, Leidy, Christian, Eduardo, Alonso, Richard, Daniel, Vivi, Randall, Jeffrey y muchas otras personas que me brindaron su ayuda de una u otra forma. Un especial agradecimiento a la profe Adriana, por ser mi consejera durante todos estos años, y ser siempre tan atenta y estar dispuesta a ayudarme cuando así fue necesario. Quiero agradecerles a todos y cada uno de los profesores y profesoras de la escuela, que durante todos estos años estuvieron ahí siempre que fue necesario. Por último, muchas gracias a las más de 100 personas que participaron en este estudio, sin ellas esto no hubiera sido posible.

Le doy un agradecimiento muy especial a las personas que me acompañaron durante todos estos años de carrera, los que hoy puedo llamar colegas, amigos y amigas. Muchas gracias a Wen, Kari, Nati Cort, Nati Bre, Andre, Josu, Gaby, Ire, Monse, Emile, Vale, Gabo y Fio. Muchas gracias a todos y todas por hacer que mi tiempo en la U fuera más feliz y ameno. Gracias por todas las enseñanzas y momentos compartidos, los llevaré siempre conmigo. Les deseo siempre lo mejor en esta vida, y espero de todo corazón que todos y todas alcancen todo lo que merecen, los quiero montones, besitos. También les quiero agradecer a todas las personas que de una u otra forma hicieron que este tiempo en la U fuera distinto y muy especial. Le agradezco también a mis amigos y amigas, que durante este tiempo me acompañaron y motivaron a siempre seguir adelante. Gracias a todos y todas los llevaré siempre en mi corazón.

ÍNDICE GENERAL

TRIBUNAL EXAMINADOR	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE GENERAL	vi
ÍNDICE DE CUADROS	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS	xix
RESUMEN	xxii
1. JUSTIFICACIÓN	1
2. OBJETIVOS	5
2.1. Objetivo general	5
2.2. Objetivos específicos	5
3. MARCO TEÓRICO	6
3.1. Espirulina	6
3.1.1. Generalidades	6
3.1.2. Condiciones de cultivo	6
3.1.3. Usos en la industria	7
3.1.4. Composición nutricional de la espirulina	8
3.1.4.1. Proteína	9
3.1.4.2. Carbohidratos	10
3.1.4.3. Lípidos	10
3.1.4.4. Vitaminas y minerales	11
3.1.4.5. Pigmentos	11
3.1.4.5.1 Ficocianina	12

3.1.4.5.2. Clorofila	13
3.1.5. Efectos de la espirulina para la salud	14
3.1.5.1. Efecto antiviral	15
3.1.5.2. Efecto antioxidante	15
3.1.5.3. Efecto anticancerígeno	16
3.1.5.4. Fortalecimiento del sistema inmune	17
3.1.5.5. Efecto neurológico	17
3.1.6. Calidad microbiológica de la espirulina	18
3.2. Jarabes	18
3.2.1. Generalidades	18
3.2.2. Viscosidad de los jarabes	19
3.2.3. Acidez de los jarabes	20
3.2.4. Calidad microbiológica de los jarabes	21
3.3. Color	22
3.3.1. Medición del color	23
3.3.2. Percepción del color	24
3.3.3. Influencia del color en los alimentos	25
3.4. Familiaridad	26
3.4.1. Familiaridad en alimentos	27
3.4.3. Familiaridad con la espirulina en Costa Rica	27
4. CAPÍTULO 1	29
4.1 Objetivo	30
4.2 Metodología	30
4.2.1. Localización y materiales	30

4.2.2. Diseño experimental	30
4.2.2.1. Definición del proceso	31
4.2.2.1.1. Optimización del perfil de azúcares	31
4.2.2.1.2. Optimización de la cantidad y balance de ácidos	32
4.2.2.2. Definición de etapas del proceso	32
4.2.2.2.1. Definición del método de mezclado	32
4.2.2.2.2 Determinación de la calidad microbiológica	33
4.2.2,2,3. Definición del tratamiento térmico	33
4.3 Resultados y discusión	36
4.3.1. Optimización del perfil de azúcares	38
4.3.2. Optimización de la cantidad y balance de ácidos	40
4.3.3. Definición del método de mezclado.	42
4.3.4. Determinación de la calidad microbiológica	45
4.3.5. Definición del tratamiento térmico	48
4.3.6. Descripción del proceso de producción de jarabe de espirulina a escala de laboratorio.	51
4.4. Conclusiones y recomendaciones	54
5. CAPÍTULO 2	55
5.1 Objetivo	56
5.2 Metodología	56
5.2.1. Localización y materiales	56
5.2.2. Diseño experimental	56
5.2.2.1. Elaboración de los cuatro prototipos	57
5.2.2.1.1. Ajuste de pH	57

5.2.2.1.2. Ajuste del valor de A_w	58
5.2.2.1.3. Determinación de los dos tratamientos térmicos	58
5.2.2.1.4. Elaboración de los prototipos	59
5.2.2.1.5 Elaboración del prototipo azul	60
5.2.3. Análisis de los parámetros de calidad	61
5.2.3.1. Análisis de viscosidad	61
5.2.3.2. Análisis de color	62
5.2.3.3. Prueba sensorial	63
5.2.3.3.1. Panelistas	63
5.2.3.3.2. Muestras	64
5.2.3.3.3. Aplicación de la prueba	64
5.2.3.3.4. Análisis de datos	65
5.3 Resultados y discusión	66
5.3.1. Preparación de los prototipos	66
5.3.2. Determinación del tratamiento térmico	68
5.3.3. Análisis de los parámetros de calidad	69
5.3.3.1. Viscosidad	69
5.3.3.2 Análisis de color	75
5.3.3.2.1. Parámetro a^*	76
5.3.3.2.2. Parámetro b^*	80
5.3.3.2.3. Parámetro L^*	85
5.3.3.3. Análisis sensorial	90
5.4. Conclusiones y recomendaciones	94
6. CAPÍTULO 3	96

6.1 Objetivo	97
6.2 Metodología	97
6.2.1. Análisis fisicoquímico del producto final	97
6.2.1.1. Cenizas y humedad	97
6.2.1.2. Proteína.	98
6.2.1.3. Acidez	99
6.2.1.4. pH	99
6.2.1.5. Grados Brix	100
6.2.1.6. Análisis de grasa	100
6.2.1.7. Vitamina C	101
6.2.1.8. Perfil de azúcares	102
6.2.2. Análisis microbiológicos	103
6.2.2.1. Recuento total aerobio (BAM C3)	103
6.2.2.2. Recuento de mohos y levaduras	103
6.2.2.3. Recuento de <i>E. coli</i> y coliformes totales con <i>Petrifilm</i> (AOAC 991.14)	104
6.3. Resultados y discusión	105
6.3.1. Análisis fisicoquímicos	105
6.3.2. Análisis microbiológico	113
6.4. Conclusiones y recomendaciones	116
7. CAPÍTULO 4	118
7.1. Objetivo	119
7.2. Metodología	119
7.2.1. Localización y materiales	119

7.2.2. Medición de color.	120
7.2.3. Sesiones grupales	120
7.2.3.1. Reclutamiento	120
7.2.3.2. Recolección de datos	120
7.2.3.3. Análisis de datos.	123
7.2.4. Análisis con panel sensorial	123
7.2.4.1. Prueba de ordenamiento	123
7.2.4.1.1. Panelistas.	123
7.2.4.1.2. Muestras	123
7.2.4.1.3. Aplicación de la prueba	124
7.2.3.1.4. Análisis de datos	124
7.2.4.2. Prueba de agrado general	125
7.2.4.2.1. Panelistas	125
7.2.4.2.2. Muestras	126
7.2.4.2.3. Aplicación de la prueba	126
7.2.4.2.4. Análisis estadístico	126
7.3. Resultados y discusión	127
7.3.1. Medición de color	127
7.3.2. Sesiones grupales	128
7.3.2.1. Percepción del color verde esmeralda	129
7.3.2.2. Percepción del color verde musgo	132
7.3.2.3. Percepción del color azul	135
7.3.3. Análisis del efecto de la familiaridad	139
7.3.4. Análisis de la expectativa de los participantes	154

7.4. Conclusiones y recomendaciones	161
8. BIBLIOGRAFÍA	163
9. ANEXOS	183

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro I. Composición nutricional de un jarabe comercial de chocolate utilizado como “ <i>topping</i> ”.	36
Cuadro II. Lista de ingredientes de productos modelo, obtenidos a través de un estudio de “ <i>benchmarking</i> ” para la identificación de potenciales ingredientes para la fabricación de un jarabe con espirulina.	37
Cuadro III. Ingredientes con potencial funcional en la elaboración de un jarabe con espirulina.	37
Cuadro IV. Formulación base utilizada para determinar la proporción de los tres diferentes tipos de azúcares en el producto final.	38
Cuadro V. Observaciones obtenidas de cada uno de los prototipos generados a partir de la variación de la proporción de los tres azúcares (miel, sacarosa y glucosa), para la determinación del balance ideal de azúcares en el producto final.	39
Cuadro VI. Valor de pH obtenido para cada uno de los prototipos elaborado en la determinación del balance de ácidos, para la formulación final de un jarabe dulce con espirulina.	40
Cuadro VII. Formulación preliminar del prototipo de jarabe dulce con espirulina, para la elaboración de un producto comercial.	42
Cuadro VIII. Observaciones finales obtenidas después de aplicar cuatro técnicas distintas de mezclado, para la formulación de un jarabe dulce con espirulina.	42
Cuadro IX. Formulación final consolidada del prototipo de jarabe dulce con espirulina, con un valor de pH menor a 3.9 y un valor de Aw menor a 0.85.	49
Cuadro X. Valores de pH y Aw del producto final	50
Cuadro XI. Tiempos en los que cada sobre tardó en llegar a una temperatura de 70°C para definir el tratamiento térmico de pasteurización.	50

Cuadro XII. Matriz de tratamientos aplicados a los prototipos de un jarabe dulce con espirulina. _____ 57

Cuadro XIII. Formulación final del prototipo azul de un jarabe dulce con espirulina a un pH de 3.9. _____ 60

Cuadro XIV. Códigos utilizados para la identificación de las muestras empleadas en la evaluación por el panel sensorial para determinar si los factores formulación y tratamiento térmico tienen un efecto sobre el agrado general de cuatro prototipos de jarabe de espirulina. _____ 64

Cuadro XV. Formulación final consolidada del prototipo de jarabe dulce con espirulina, con un valor de pH de 2.9 y un valor de Aw menor a 0.85. _____ 66

Cuadro XVI. Tiempos en los que cada sobre tardó en llegar a una temperatura de 90°C para definir el tratamiento térmico de esterilización. _____ 68

Cuadro XVII. Duración del tratamiento térmico para cada uno de los prototipos evaluados para determinar el efecto de la formulación y el tratamiento térmico sobre los parámetros de calidad de viscosidad, color y agrado general. _____ 69

Cuadro XVIII. Análisis de suma de cuadrados de los factores “Tratamiento térmico” y “Formulación”, así como su respectiva interacción, para determinar si tienen un efecto significativo sobre la variable respuesta Viscosidad. _____ 69

Cuadro XIX. Valores de viscosidad para cada uno de los prototipos analizados con distinta combinación de tratamiento térmico y cambio de formulación con el fin de variar el valor de pH final en su formulación. _____ 70

Cuadro XX. Valores medios del parámetro de color a* para cada uno de los prototipos analizados realizados con una distinta combinación de tratamiento térmico y cambio de formulación con el fin de variar el valor de pH final en su formulación. _____ 76

Cuadro XXI. Valores medios del parámetro de color b* para cada uno de los prototipos analizados realizados con una distinta combinación de tratamiento térmico y cambio de formulación con el fin de variar el valor de pH final en su formulación.	80
Cuadro XXII. Valores medios del parámetro de color L* para cada uno de los prototipos analizados realizados con una distinta combinación de tratamiento térmico y cambio de formulación con el fin de variar el valor de pH final en su formulación.	85
Cuadro XXIII. Análisis de suma de cuadrados de los factores Tratamiento térmico y pH, así como su respectiva interacción, para determinar si tienen un efecto significativo sobre la variable respuesta agrado general, para un n=104.	90
Cuadro XXIV. Valores medios de agrado general obtenidos a partir de un análisis sensorial de los cuatro prototipos generados a partir de la combinación de dos valores de pH distintos y dos tratamientos térmicos distintos.	90
Cuadro XXV. Resultado del análisis de cenizas totales para la materia prima y el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo.	105
Cuadro XXVI. Resultado del análisis de humedad total para la materia prima y el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo.	106
Cuadro XXVII. Resultado del análisis de proteína total para la materia prima y el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo.	106
Cuadro XXVIII. Resultado del análisis de acidez total para el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo.	107
Cuadro XXIX. Resultado del análisis de pH para el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo.	108
Cuadro XXX. Resultado del análisis de °Brix para el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo.	108

Cuadro XXXI. Resultado del análisis de grasa total para la materia prima y el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo. _____	109
Cuadro XXXII. Resultado del análisis de vitamina C para la materia prima y el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo. _____	110
Cuadro XXXIII. Resultado del análisis de azúcares totales para la materia prima y el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo. _____	110
Cuadro XXXIV. Resultado del análisis del perfil de azúcares el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo. _____	111
Cuadro XXXV. Concentración de los macro y micronutrientes principales por porción (20 g) del producto final. _____	113
Cuadro XXXVI. Resultado del análisis microbiológico para el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo. _____	113
Cuadro XXXVII. Muestras evaluadas por un panel de 104 participantes (n=104) en una prueba de ordenamiento y de agrado general, para determinar el efecto del color sobre la percepción de un jarabe con contenido de espirulina. _____	119
Cuadro XXXVIII. Valores de p crítico para los parámetros L*, a* y b* de color, calculados para tres muestras de jarabe de espirulina con pH 3.9, con el fin de determinar si existe una diferencia de color entre los mismos. _____	127
Cuadro XXXIX Medias de los parámetros L*, a* y b* para cada uno de los tres productos analizados con el fin de determinar las diferencias entre los colores de cada uno de ellos. _____	128
Cuadro XL. Valores de p calculado del análisis de Chi Cuadrado, para la determinación de la correlación entre la familiaridad con el producto, y la forma de percibir cada uno de los productos cómo el que mejor cumple cada uno de los atributos analizados: saludable, natural, dulce, ácido y rico. _____	140

Cuadro XLI. Frecuencias porcentuales en las cuales los participantes del panel seleccionaron cada uno de los prototipos cómo el que mejor cumple con cada una de las características estudiadas.	141
Cuadro XLII. Frecuencias porcentuales en las cuales los participantes del panel seleccionaron cada uno de los prototipos cómo el que peor cumple con cada una de las características estudiadas.	141
Cuadro XLIII. Valores de p calculado de la prueba de Friedman cada uno de los atributos evaluados, con el fin de determinar si existe una diferencia en el orden en el cual los prototipos (variables en color) fueron percibidos.	144
Cuadro XLIV. Resultado de la prueba de comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi, para los dos grupos de consumidores al estudiar el efecto del color sobre la percepción de los productos tomando en cuenta el atributo <u>saludable</u> .	145
Cuadro XLV. Resultado de la prueba de comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi, para los dos grupos de consumidores al estudiar el efecto del color sobre la percepción de los productos tomando en cuenta el atributo <u>natural</u> .	146
Cuadro XLVI. Resultado de la prueba de comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi, para los dos grupos de consumidores al estudiar el efecto del color sobre la percepción de los productos tomando en cuenta el atributo <u>dulce</u> .	148
Cuadro XLVII. Resultado de la prueba de comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi, para los dos grupos de consumidores al estudiar el efecto del color sobre la percepción de los productos tomando en cuenta el atributo <u>ácido</u> .	150
Cuadro XLVIII. Resultado de la prueba de comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi, para los dos grupos de consumidores al estudiar el efecto del color sobre la percepción de los productos tomando en cuenta el atributo <u>rico</u> .	152

Cuadro XII. Perfil esperado por los participantes familiarizados y no familiarizados con la espirulina, de acuerdo con la cantidad de veces que colocaron cada uno de los productos cómo el que mejor cumple los atributos estudiados, y el valor de agrado general dado por cada uno de los grupos para cada producto analizado. _____ 155

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de la ficocianina _____	12
Figura 2. Estructura de la clorofila _____	14
Figura 3. Estructura utilizada para la medición de temperatura de sobres con producto en su interior, para la determinación de las condiciones del tratamiento térmico en la elaboración de un jarabe dulce con espirulina _____	35
Figura 4. Apariencia del control (A), prototipo 1 (B) y prototipo 2 (C), después de 4 días de almacenamiento, para determinar el balance de ácidos, para la formulación final de un jarabe dulce con espirulina. _____	41
Figura 5. Colores observados para los prototipos de jarabe dulce con espirulina, al evaluar diferentes técnicas de mezclado y preparación del prototipo. _____	44
Figura 6. Resultados de un rayado realizado a partir de una muestra de jarabe dulce con espirulina deteriorado (A) llevado a cabo en agar estándar (B) y agar papa dextrosa acidificado (C). _____	45
Figura 7. Resultados de la tinción de gram para dos morfologías distintas identificadas en un cultivo puro de un jarabe dulce con espirulina, y una tinción de azul de lactofenol. _____	47
Figura 8. Cultivo puro de un sobre de jarabe dulce con espirulina para la comparación entre el producto sin pasteurizar (a) y después de ser pasteurizado (b). _____	51
Figura 9. Diagrama de flujo del proceo para la elaboración de un jarabe dulce con espirulina. _____	52
Figura 10. Grosor de la muestra (1 mm) colocado en el plato para la muestra y celda giratoria utilizada para la determinación de la viscosidad de cuatro prototipos de un jarabe dulce con espirulina con valores distintos de pH y distinto tratamiento térmico. _____	62

Figura 11. Escala hedónica utilizada por los participantes del panel sensorial para la determinación del agrado general de los prototipos de jarabe de espirulina.	63
Figura 12. Bandeja presentada a los panelistas para el análisis del agrado general de cuatro prototipos de un jarabe dulce con espirulina con distintos valores de pH y tratamiento térmico.	65
Figura 13. Diagrama de flujo del proceso seguido para la elaboración de los cuatro prototipos de jarabe dulce con espirulina.	67
Figura 14. Medias de viscosidad para los 4 prototipos generados a partir de la combinación de dos valores de pH distintos y dos tratamientos térmicos distintos.	72
Figura 15. Resumen de las medias de la viscosidad medida como Pa.s para los cuatro prototipos generados a partir de la combinación de dos valores de pH distintos y dos tratamientos térmicos distintos.	75
Figura 16. Comparación de los valores medios para el parámetro a^* medidos con un colorímetro a cuatro distintos prototipos de jarabe dulce con espirulina, para determinar el efecto de la formulación a distintos pH, y el tratamiento térmico sobre el color del producto.	78
Figura 17. Comparación de los valores medios para el parámetro b^* medidos con un colorímetro a cuatro distintos prototipos de jarabe dulce con espirulina, para determinar el efecto de la formulación a distintos pH, y el tratamiento térmico sobre el color del producto.	83
Figura 18. Comparación de los valores medios para el parámetro L medidos con un colorímetro a cuatro distintos prototipos de jarabe dulce con espirulina, para determinar el efecto de la formulación a distintos pH, y el tratamiento térmico sobre el color del producto.	87
Figura 19. Resumen de la comparación de los valores medios para el parámetro L, a^* y b^* medidos con un colorímetro a cuatro distintos prototipos de jarabe dulce con espirulina, para	

determinar el efecto del tratamiento térmico sobre el color del producto. _____ 89

Figura 20. Efecto del pH sobre el agrado general medido con un panel sensorial de 104 personas, a cuatro distintos prototipos de jarabe dulce con espirulina, para determinar su efecto sobre el agrado general del producto. _____ 93

Figura 21. Escenarios de consumo propuestos para los jarabes dulces con espirulina _____ 122

Figura 22. Dibujos realizados por los participantes del *Focus Group* inspirados por el color verde esmeralda. _____ 129

Figura 23. Dibujos realizados por los participantes del *Focus Group* inspirados por el color verde musgo. _____ 132

Figura 24. Dibujos realizados por los participantes del *Focus Group* inspirados por el color azul. _____ 135

Figura 25. Valores medios de agrado general para los tres productos de colores distintos de jarabe dulce con espirulina, para dos grupos de consumidores distintos _____ 157

RESUMEN

Jiménez Rodríguez, Marcelo

Desarrollo y evaluación de la percepción de un jarabe de microalga espirulina (*Arthrospira platensis*) con potenciales aplicaciones caseras e industriales

Tesis de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos. – San José, Costa Rica.

Jiménez Rodríguez, M. 2023

El presente estudio tuvo como objetivo principal desarrollar un jarabe líquido a partir de la microalga espirulina (*Arthrospira platensis*) con potenciales aplicaciones caseras e industriales. Se siguió una metodología donde se realizó un *benchmarking*, y pruebas de ajuste del contenido de azúcares, el valor de pH y otros ingredientes con una función tecnológica en la formulación. Se plantearon dos tratamientos térmicos (pasteurización y esterilización) y dos valores de pH distintos; a partir de la combinación de estos factores se formularon cuatro prototipos de jarabe de espirulina distintos, a los cuales se les evaluó tres parámetros de calidad: viscosidad, color (parámetros L*, a* y b*) y agrado general, mediante un panel de 104 participantes (n=104). Al prototipo con mejores valores de estos tres parámetros de calidad se le realizó una caracterización química, donde se analizó: proteína, grasa, vitamina C, acidez total, azúcares totales, grados Brix, pH, cenizas y humedad. Se realizaron además análisis microbiológicos, donde se determinó el recuento total aerobio (RTA), recuento de mohos y levaduras, recuento de coliformes totales y recuento de *Escherichia coli*. Finalmente, se analizaron tres prototipos de colores distintos, bajo el marco de la percepción que tienen los consumidores de estos productos, basándose únicamente en su color. Se analizaron cinco atributos: saludable, natural, dulce, ácido y rico, mediante una prueba de ordenamiento utilizando un panel sensorial (n=104) y un *Focus Group* (n=7). A partir de estas pruebas se obtuvo un jarabe de espirulina con un contenido de 17.5% de espirulina. Se estableció que el prototipo más viscoso y con una menor afectación de los pigmentos clorofila y ficocianina fue el que se elaboró con un pH de 3.9 y un tratamiento térmico de pasteurización (t= 39 s y T= 95 °C). No se encontraron diferencias significativas entre los cuatro prototipos para el parámetro de agrado general. El producto pasteurizado, con pH de 3.9, tiene un contenido de proteína de 11.4 g/100 g, grasa de <0.10 g/100 g, vitamina C 343.2 mg/100 g, acidez total de 1.94 g/100 g, grados brix de 51.46°, pH de 3.88, cenizas de 0.55 g/100 g y humedad de 23.15 g/100 g. Los resultados del análisis microbiológico fueron de 2.1×10^2 UFC/g para el recuento total aerobio, un recuento de 40 UFC/g de mohos y levaduras, y <10 UFC/g para coliformes totales y *Escherichia coli*.

Finalmente, se determinó que el producto de color verde esmeralda es considerado el más natural y saludable de acuerdo con su apariencia, el producto azul es considerado el más dulce y rico, y para el atributo ácido, no se determinó una influencia muy clara del color sobre la percepción de este atributo.

MDes. Pilar Fallas Rodríguez. Directora de la investigación.

Escuela de Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica.

1. Justificación

La espirulina (*Arthrospira platensis*) es una cianobacteria capaz de crecer naturalmente en un ambiente marino (levemente alcalino), en zonas tropicales y subtropicales (González, 2015). Su uso creciente en la industria alimentaria se debe a su alto valor nutricional, y diversas propiedades reportadas (Pan-utai *et al.*, 2018). Posee una composición de carbohidratos de 17.8 % y entre 4.3 % y 6.93 % de lípidos (Sharoba, 2014; Tang & Suter, 2011). Como parte de la fracción lipídica, se encuentran ácidos grasos saturados e insaturados como los ácidos omega-6 y omega-3, así como el ácido gama-linoleico (Sharoba, 2014; Choopani *et al.*, 2016). Además de esto, la espirulina cuenta con una serie de vitaminas y minerales que aumentan su valor, entre los cuales se pueden citar calcio, potasio, magnesio, hierro, manganeso, zinc, selenio, así como vitaminas B1, B2, B3, vitamina E y vitamina K, entre otros (Sharoba, 2014; Al Hinai *et al.*, 2019). Por su parte, otros compuestos que terminan de formar la fracción sólida de la espirulina son carotenoides como el β -caroteno (el cual es un precursor de la vitamina A) y las xantofilas, así como la clorofila (Tang & Suter, 2011; Sharoba, 2014).

Los componentes de mayor relevancia en la espirulina son las proteínas, las cuales se encuentran presentes en hasta un 60% o incluso un poco más (Nuhu, 2013; Al Hinai *et al.*, 2019). La calidad de las proteínas en la espirulina es mayor que en otras de las denominadas microalgas disponibles en el mercado, pues cuenta con todos los aminoácidos esenciales, encontrándose en menor cantidad el triptófano con una concentración de 10 mg/g (Liestianty *et al.*, 2019).

Dentro de las proteínas que pueden ser encontradas en la espirulina, las ficobiliproteínas, representan de un 40 a 60% del contenido total (Pan-utai *et al.*, 2018). Este grupo proteico en particular es de importancia para los investigadores y desarrolladores de productos ya que se les atribuye, en la mayoría de los casos, las propiedades beneficiosas del consumo de esta microalga. De una forma más específica, este grupo de proteínas está dividido en dos de acuerdo con sus colores, las ficoeritrinas (rojo) y la ficocianina (PC) (azul). Esta última a su vez se divide en tres grupos, R-ficocianina (R-PC), aloficocianina y C-ficocianina (C-PC), la cual es responsable de la mayoría de los atributos positivos reportados en la literatura (Kuddus, 2013).

Uno de los efectos sobre la salud más relevantes que se ha documentado con respecto al uso de espirulina, es la inhibición de una serie de virus. Investigaciones que datan desde 1996 han demostrado que un polisacárido aislado de un concentrado de espirulina, llamado espirulano de calcio (Ca-SP), ayuda en la inhibición de virus como *Herpes simplex*, HIV-1 y el virus de la influenza (Nuhu, 2013). En un estudio clínico realizado, se encontró que el consumo de un suplemento dietario de 10 g de espirulina diarios fueron suficientes para lograr la disminución de cargas virales, inclusive 6 meses después de terminado el tratamiento (Ngo-Matip *et al.*, 2015).

Además de las características antivirales debidas a proteínas y polisacáridos, se ha evidenciado un efecto en la mejora y fortalecimiento del sistema inmune. Aunque el mecanismo de acción aún no se encuentra bien determinado, se ha reportado que la ingesta de espirulina tiene la capacidad de mejorar la anemia e inmunosenescencia en adultos mayores, aumentando los niveles de hemoglobina, conteo de células y de la actividad de la enzima indoleamina 2,3-dioxigenasa (Selmi *et al.*, 2011).

Otra propiedad de gran relevancia que se atribuye a la espirulina, es un efecto positivo sobre condiciones y desórdenes neurológicos. Parte de las facultades atribuidas se deben al potencial antioxidante de las ficobiliproteínas en general. La espirulina tiene un efecto anti-ciclooxigenasa-2 y antioxidante, lo que reduce la oxidación generada por los peroxinitritos que dañan el ADN y generan isquemia cerebral (Sinha *et al.*, 2018). Por otro lado, se presentan otra serie de efectos beneficiosos para la salud, los cuales le dan a la espirulina un gran potencial en su uso como materia prima.

La espirulina es una materia prima de la cual se han demostrado múltiples efectos positivos en la salud humana y con gran potencial para ser utilizada en el desarrollo de alimentos funcionales. Sin embargo, la mayoría de los usos de la espirulina en la industria de alimentos se reducen a su aplicación como ingrediente secundario para funciones específicas. Actualmente se utiliza como uno de los pocos colorantes azul-verdoso oscuros que pueden ser obtenidos de forma natural y también para extraer sustancias con un potencial de uso industrial como el agar, carragenatos y alginatos (Khanra *et al.*, 2018).

Uno de los principales retos de utilizar la espirulina como materia prima para el desarrollo de alimentos es la estabilidad de sus compuestos funcionales durante el

procesamiento. Se ha demostrado que la ficocianina, principal componente funcional, así como otros componentes de alto valor, entre ellos, carbohidratos, compuestos coloreados (carotenoides, clorofila), compuestos fenólicos, presentan una tasa de degradación no solo dependiente de la temperatura, sino que también de los valores de pH (Chaiklahan *et al.*, 2012; Kannaujiya & Sinha, 2016; Parwani & Singh, 2019; Falkeborg *et al.*, 2018).

Por otro lado, aunque la espirulina ha estado presente en el mercado costarricense desde hace años, principalmente en forma de pastillas o suplementos dietarios, este sigue siendo un producto poco familiar en la cultura costarricense donde el consumo de algas y microalgas no es tradicional. Tomando esto en cuenta, se puede pensar que, al elaborar un producto de fácil aplicación y amplia versatilidad puede llegar a ser aceptado. Dicho esto, la elaboración de un jarabe cumple con estas características que puedan facilitar la aceptación del ingrediente en el mercado. definen cómo una solución acuosa, normalmente con una alta concentración de azúcares la cual puede ser de distintas naturalezas, y requerirse para distintos fines.

En términos generales, los jarabes son utilizados ampliamente en la industria alimentaria cómo ingredientes para productos más elaborados, o cómo acompañamiento de otros alimentos a nivel casero. Tomando cómo ejemplos otros productos similares, un jarabe de chocolate puede ser utilizado cómo *topping* agregado por un consumidor final, o cómo parte de una veta en un producto industrial. Son estas características, las que le dan a los jarabes la versatilidad de la cual otros alimentos no gozan.

Para finalizar, la tonalidad de la espirulina es poco común. Aunque se ha demostrado que este tipo de coloración genera un efecto positivo de atracción (Dias *et al.*, 2012), no siempre este es el caso. En otros estudios se menciona que el color azul verdoso en los alimentos puede generar rechazo o disgusto de parte del consumidor de acuerdo con investigaciones que datan de los años cincuentas (Spence, 2015). En este sentido, el color azul-verdoso característico de esta materia prima puede ser positivo o negativo, dependiendo de la aplicación o del producto en la que se incorpora, las características del consumidor y la percepción resultante de la interacción productor-consumidor (Spence, 2015).

Bajo este contexto, en el presente estudio se pretende desarrollar un jarabe concentrado de espirulina, para la fácil aplicación a nivel doméstico e industrial, con

potencial efecto funcional, a partir del cual se evaluará la respuesta del consumidor ante el estímulo visual de productos comestibles a base de espirulina, así como su nivel de anuencia de consumo.

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

- Desarrollar un jarabe líquido a partir de la microalga espirulina (*Arthrospira platensis*) con potenciales aplicaciones caseras e industriales.

2.2. Objetivos específicos

- Establecer la formulación y las condiciones de procesamiento necesarias para el desarrollo de un jarabe de espirulina.
- Evaluar el efecto del tratamiento térmico y la formulación, sobre las características de calidad fisicoquímica y sensorial del jarabe de espirulina.
- Determinar la composición fisicoquímica, composición nutricional y la calidad microbiológica del prototipo final.
- Valorar la opinión y aceptación general del consumidor del prototipo final, tomando en cuenta el efecto del color y la familiaridad con la espirulina.

3. Marco teórico

3.1. Espirulina

3.1.1. Generalidades

La espirulina es una microalga fotosintética la cual ha tenido un creciente uso en la industria debido a su alto valor nutricional, y diversas propiedades reportadas (Pan-utai *et al.*, 2018). Esta es una cianobacteria que crece de forma natural en un ambiente marino y lagos (levemente alcalino), en zonas tropicales y subtropicales (González, 2015; Wu *et al.*, 2016). Haciendo que este sea un producto con una gran producción en África, México, Estados Unidos e incluso la zona de breña entre Francia e Inglaterra. La espirulina es caracterizada por tener un alto valor nutricional de aproximadamente 60% de proteína en su peso seco, así como vitaminas, minerales, ácidos grasos insaturados carotenoides y otros nutrientes (Pan-utai *et al.*, 2018; Wu *et al.*, 2016). Dentro del vasto grupo de proteínas, destacan un grupo denominado ficobiliproteínas, las cuales son proteínas receptoras de luz a las que se les atribuyen la mayoría de efectos beneficiosos relacionados con el consumo de espirulina, como lo son propiedades antivirales, antiinflamatorias, antioxidantes entre otras (Pan-utai *et al.*, 2018).

3.1.2. Condiciones de cultivo

La espirulina, al ser un alga fotosintética requiere de ciertas condiciones que si se siguen de buena manera, se puede producir a gran escala. Como parte de los aspectos positivos relacionados con esta actividad, resalta que no se necesita utilizar agua de alta calidad, ni tierra fértil, lo que hace que sea una actividad, en cuanto a sus recursos, sencilla de realizar (Villalta-Romero *et al.*, 2019). Sin embargo, hay más factores a tomar en cuenta, como espacio, personal y factores climáticos. Se menciona que la temperatura es crucial para el crecimiento de la espirulina, teniendo un valor óptimo de temperatura cercano a los 35 °C (Cárdenas *et al.*, 2010). La luz también es un factor importante en las condiciones de crecimiento, pues a mayor intensidad luminosa se tiene un mejor crecimiento y mayor producción de ficocianina en la espirulina (Begum *et al.*, 2015). Sin embargo, se debe tener el cuidado de no sobreexponer el alga a la luz solar, pues se puede dar la ruptura de filamentos

(fotólisis), generada por el exceso de luz (Cárdenas *et al.*, 2010). Por último, se menciona que al realizarse el cultivo en tanques de gran escala, se puede aprovechar el viento para que se agiten los tanques y se estimule el crecimiento de la espirulina (Cárdenas *et al.*, 2010). Estas características óptimas para su crecimiento, hace que Costa Rica tenga un potencial alto que podría aprovecharse, lo cual ya está siendo tomado en cuenta por productores nacionales que poco a poco incursionan con este producto.

3.1.3. Usos en la industria

Las algas son una materia prima utilizada en la industria general, y comprende una gran variedad en las posibilidades de su uso. En general su uso ha comprendido la industria cosmética, combustibles, harinas y fertilizantes (FAO, 2004). En una nota relacionada con la industria alimentaria, de las algas se han logrado extraer compuestos derivados de hidrocoloides, como lo son los carragenatos, utilizados como espesantes en algunas formulaciones de alimentos (Gutiérrez Cuesta *et al.*, 2017). Adicionalmente, se logra extraer agar y alginatos como parte de sus usos (FAO, 2004). Actualmente, el uso de algas para la alimentación humana, como ingredientes o suplementos dietarios ha ido en crecimiento. Tomando en cuenta sus características nutricionales, hace que esta sea una materia prima llamativa para la formulación de nuevos productos e ingredientes, pues tiene una composición estimada de carbohidratos en un 53 %, minerales en un 25 % y proteína en hasta un 20 % (Bourgougnon *et al.*, 2011).

En la industria de alimentos las aplicaciones que encierran las funciones de la ficocianina incluyen, inclusive, funciones tecnológicas o industriales que presentan un potencial dentro de los alimentos. Una de las aplicaciones tecnológicas más comunes de la ficocianina presente en la espirulina, relacionadas con los alimentos, es su potencial uso de este producto como un colorante natural. Actualmente, hay pocos colorantes obtenidos de una manera natural que correspondan a una tonalidad azul oscura, como se obtiene de la ficocianina (Kuddus, 2013). Por su parte hay reportes de combinaciones con otros colorantes como lo son la mixoxantófilas y la zeaxantina, presentes en la espirulina las cuales también se han logrado extraer de esta materia prima (Kuddus, 2013).

En cuanto a aplicaciones alimentarias, las propiedades que le atribuyen un potencial funcional a la espirulina generan interés por utilizarla como materia prima. Como se ha mencionado anteriormente, este es un ingrediente que cumple de forma ideal los supuestos que parten de las tendencias alimentarias actuales, las cuales corresponden, entre otras, al uso de productos con un valor agregado en términos nutricionales y nutracéuticos. Las algas tienen el potencial de ser utilizadas como un producto existente en un mercado determinado, un compuesto bioactivo y refinado, o toda el alga puede presentarse como el producto meta (Domínguez, 2013). Otras de las aplicaciones que tiene la espirulina, al igual que con en otras las cuales son compartidas con algas y microalgas, es posible extraerla extracción de sustancias con un potencial de uso industrial como el agar, carragenatos, y alginatos son parte de los materiales o sustancias que pueden ser extraídos de la espirulina y que esta tenga una aplicación tecnológica (Khanra *et al.*, 2018).

3.1.4. Composición nutricional de la espirulina

La espirulina es una materia prima rica en proteína (entre 60 % y 70 %), el resto de su composición, es distinta dependiendo de sus condiciones de crecimiento. En términos generales se menciona que la espirulina posee una composición de carbohidratos de 17.8 % y entre 4.3 y 6.93 % de lípidos (Sharoba, 2014; Tang & Suter, 2011). Como parte de la fracción lipídica, la cual no representa una alta porción, se encuentran también ácidos grasos saturados, e insaturados, más específicamente omega-6 y omega -3 (Sharoba, 2014). Además de esto, la espirulina cuenta con una serie de vitaminas y minerales que aumentan su valor, se pueden citar calcio, potasio, magnesio, hierro, manganeso, zinc, selenio entre otros. Así como vitaminas B1, B2, B3, vitamina E, Vitamina K entre otros (Sharoba, 2014). Por su parte, otros compuestos que terminan de formar la fracción sólida de la espirulina son carotenoides como β -caroteno (el cual es un promotor de vitamina A) y zeaxantina (Tang & Suter, 2011; Tang, 2011), así como otros compuestos como las xantofilas y la clorofila, este último siendo el segundo pigmento más importante del alga (Sharoba, 2014). Esto hace que su calidad nutricional se vea aumentada, y no sea únicamente dependiente de la ficocianina, aunque es una parte muy importante.

3.1.4.1. Proteína

En el caso específico de la proteína, se han reportado valores de composición nutricional para la espirulina que indican niveles de proteína que alcanzan hasta el 60%, o incluso un poco más (Nuhu, 2013), algo que es sumamente llamativo para un producto que no es de origen animal. Esto puede ser un porcentaje que supera la proporción de proteína encontrada en carne, huevos, leche, granos y soya (Hosseini *et al.*, 2013). Dentro de este grupo de proteínas que pueden ser encontradas en la espirulina destaca un grupo denominado ficobiliproteínas, las cuales representan de un 40 a 60% del total de proteínas que hay en esta alga, y entre 15 a 25% de la masa seca total (Pan-utai *et al.*, 2018; Romay *et al.*, 2003). Este grupo proteico en particular, es de importancia para los investigadores y desarrolladores de productos ya que estas son a las que se les atribuye, en la mayoría de los casos, las propiedades nutraceuticas de esta alga. Como parte de las proteínas de la espirulina, destaca la ficocianina, esta es considerada un pigmento, o colorante natural seguro para el consumo humano. Utilizado típicamente en la manufactura de goma de mascar, dulces y productos lácteos (Hosseini *et al.*, 2013).

La proteína de la espirulina también es considerada como proteína de calidad. Esto hace referencia a la proporción de aminoácidos esenciales que estén presentes en el producto una vez que haya concluido el proceso de transformación de la espirulina llevado a cabo. Específicamente la espirulina cuenta con una proporción rica de aminoácidos esenciales, ya que cuenta con cada uno de ellos, en menor cantidad el triptófano con una concentración de 10 mg/g (Liestianty *et al.*, 2019). Hay que tomar en cuenta la dificultad asociada a encontrar una materia prima que cuente con proteína completa, es por esto que es de suma importancia saber si esta concentración total de proteína se mantiene en un producto final después del proceso de transformación que lleve la materia prima para transformarse en un producto final. Además de esto, la digestibilidad de las proteínas presentes en la espirulina es de 83 a 90%, lo cual es sumamente alto similar a la digestibilidad de la caseína pura la cual tiene una digestibilidad del 95.1%. Esta alta digestibilidad está asociada a la disponibilidad de la proteína, pues carece de paredes gruesas de celulosa, lo que hace que haya mayor contacto con la proteína y se pueda digerir una mayor proporción (Hosseini *et al.*, 2013).

3.1.4.2. Carbohidratos

La espirulina, dentro de su fracción de carbohidratos está compuesta por un polisacárido ramificado, muy similar al glucógeno (Hoseini *et al.*, 2013). Estos polisacáridos presentes en la espirulina, son relacionados a su vez con efectos positivos en la salud, frecuentemente una acción antiviral e inmunomoduladora en el cuerpo de las personas que la consumen (Parages *et al.*, 2012). La fracción de carbohidratos no tiene un peso significativo en el sabor de la espirulina extraída de manera industrial, pues no posee un sabor dulce característico de matrices con alta concentración de azúcares simples. Lo que hace suponer, que en la espirulina la mayoría de carbohidratos presentes tienen una función estructural y funcional. También cuenta con un tipo de polisacáridos azufrados, el cual es relacionado primordialmente con parte de las características antivirales llamado “Espirulano de calcio”. Este compuesto se comprende en algunas de sus partes por unidades de ramnosa, un monosacáridos de origen vegetal perteneciente a la familia de las pentosas (Hoseini *et al.*, 2013).

3.1.4.3. Lípidos

La fracción lipídica de la espirulina es una de las menores en total, pero con un alto valor nutricional, recibiendo poco valor al mencionar su composición nutricional. La proporción de lípidos en la espirulina (entre 4.3 % y 7 % aproximadamente), se puede dividir en una fracción de grasa saponificable (83 %) y no saponificable (17 %) (Hosseini *et al.*, 2013). Además de esto, cerca de la mitad de los lípidos en la espirulina son ácidos grasos y colesterol, donde la mayoría son específicamente ácidos grasos del tipo omega-6 (Parages *et al.*, 2012). Destaca también la cantidad de ácido gamma linolénico (GLA), asociado a múltiples beneficios para la salud, presente en *Spirulina platensis*, al ser de casi 49 % del total de ácidos grasos (Borowitzka, 2009). De esta manera, la espirulina tiene el potencial de ser una buena fuente de GLA, después de aceites de origen vegetal ricos en GLA (Hosseini *et al.*, 2013). La fracción no saponificable de los lípidos que complementan la cantidad de lípidos en la espirulina, está compuesta por pigmentos, parafinas, esteroides y terpenos.

3.1.4.4. Vitaminas y minerales

En cuanto a las vitaminas y minerales presentes en la espirulina, las de mayor importancia son las que componen el grupo de vitaminas B. Se menciona que la espirulina es una de las fuentes más ricas en Vitamina B12, incluyendo sus análogos y pseudovitamina B12, aunque esta cantidad no es capaz de satisfacer la cantidad diaria necesitada por el cuerpo humano de esta vitamina (Hosseini *et al.*, 2013). Se menciona que con 20 g de espirulina se puede suplir el requerimiento de vitamina B1, vitamina B2 y Vitamina B3 (Henrikson, 2009). Además del complejo vitamínico B, se puede encontrar compuestos precursores de vitamina A, cómo lo es el β -caroteno, el cual se encuentra presente en la espirulina (Hosseini *et al.*, 2013; Tang & Suter 2011; Tang, 2011).

Por su parte, los minerales más importantes en la espirulina son hierro (0.58-1.8 g/kg), calcio (1.3-14 g/kg), fósforo (6.7-9.0 g/kg) y potasio (6.4-15.4 g/kg), lo que hace que sea un suplemento alimentario importante en la dieta de personas vegetarianas (Hosseini *et al.*, 2013). Estos minerales son absorbidos por el alga durante el crecimiento de la misma, por lo que las condiciones de cultivo adquieren una importancia relevante para su contenido nutricional final. En comparación a otros alimentos, la espirulina es considerada un alimento rico en hierro, con más de diez veces el contenido de hierro en comparación con otros alimentos también reconocidos cómo ricos en hierro (Hosseini *et al.*, 2013). De igual manera, se considera que el hierro en la espirulina se absorbe en un 60% más que el sulfato ferroso, considerado un suplemento alimenticio (Henrikson, 2009; Falquet, 2012). En cuanto a los otros minerales, se considera que la espirulina puede contener mayor cantidad de calcio, fósforo y magnesio, en cantidades comparables a las de la leche (Hosseini *et al.*, 2013).

3.1.4.5. Pigmentos

Cómo parte de los compuestos que se encuentran en la espirulina, dos tienen una importancia relevante, tanto fisiológica de la planta, cómo importancia funcional. Los pigmentos, específicamente la ficocianina y clorofila, son dos compuestos sensibles a cambios en las condiciones a las que se encuentra la espirulina, y pueden ser un indicador indirecto de la estabilidad de otros compuestos nutricionales.

3.1.4.5.1 Ficocianina

La ficocianina, cómo se mencionó anteriormente, es un tipo de proteína presente en la espirulina. De una forma más específica, este grupo de proteínas es dividido en dos de acuerdo a sus colores las ficoeritrina (rojo) y la ficocianina (azul), la cual a su vez se divide en tres grupos R-ficocianina (R-PC), aloficocianina y C-ficocianina (C-PC), es esta última la responsable de la mayoría de atributos positivos reportados (Kuddus, 2013). Este compuesto ha tenido un crecimiento en su uso como fuente de proteína y agente colorante de alimentos, al tener una coloración azul brillante (Faieta *et al.*, 2020). La ficocianina pertenece a un grupo de proteínas llamado ficobiliproteínas, las cuales son proteínas oligoméricas con cromóforos terrapirroles unidos covalentemente a las apoproteínas, conocidos estos como bilinas (Figura 1), y se caracterizan por ser altamente solubles en agua, (Faieta *et al.*, 2020; Hoseini *et al.*, 2012). La ficocianina, al igual que la clorofila, es un pigmento al cual se le atribuyen funciones fotosintéticas en los tejidos vegetales, cumpliendo una función conjunta con la clorofila, pues la ficocianina transfiere la luz solar absorbida, a la clorofila α (Kannaujiya & Sinha, 2015; Faieta *et al.*, 2020). La ficocianina puede llegar a representar cerca del 20 % de la masa seca de la espirulina, dependiendo de sus características de cultivo, lo que hace que esta pueda tener una gran importancia en productos con espirulina cómo ingrediente (Chaiklahan *et al.*, 2012).

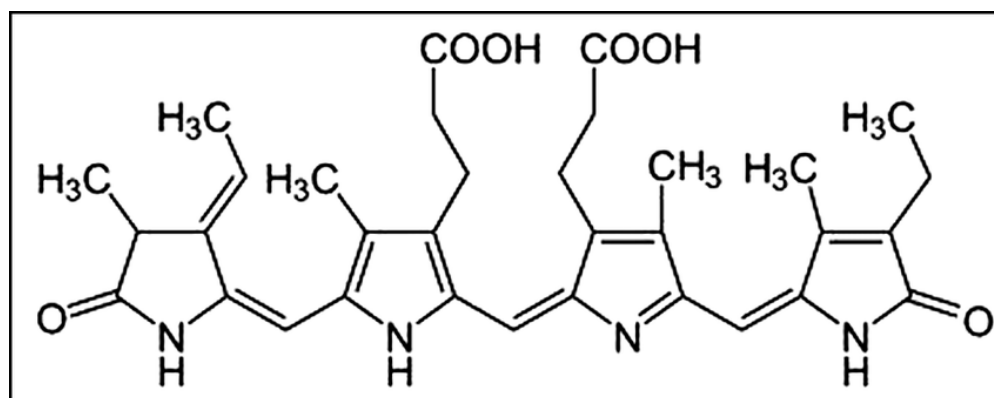


Figura 1. Estructura de la ficocianina (Hoseini *et al.*, 2012).

De la misma forma que otros pigmentos presentes en la naturaleza, la ficocianina puede tener una afectación por las condiciones ambientales. Cómo se estableció anteriormente las condiciones a las que se cultiva, determinan el contenido proteico de la

espirulina, incluyendo en esta fracción proteica la ficocianina. Además de esto, al contarse con la espirulina como una materia prima, las condiciones a las que se exponga van a tener un efecto sobre su estructura y estabilidad.

3.1.4.5.2. Clorofila

La clorofila es otro de los pigmentos que se encuentran en una gran cantidad de productos comerciales con espirulina. La clorofila es uno de los pigmentos mayoritarios presentes en los alimentos, ya que forma parte de una gran cantidad de plantas, algas y otros organismos fotosintéticos, incluyendo también sus partes, como tallos, frutos y hojas. Al estar tan presente en los alimentos, la clorofila se consume aproximadamente en una concentración de entre 26-86 mg/d (Hayes & Ferruzzi, 2020). Esta relevancia que adquiere la clorofila, hace que sea importante mencionarla, sus características, efectos y condiciones ideales. La clorofila es un pigmento de la familia de las porfirinas, la cual en el centro de su estructura contiene un átomo de magnesio (Figura 2). Esto le da la facultad de funcionar como un captador de luz en procesos fotosintéticos de la planta, a través de complejos formados entre el pigmento y proteínas (Yamano *et al.*, 2018). La clorofila absorbe luz en la región azul-verde del espectro, lo que le da su color característico en plantas, y demás organismos donde se encuentra (Yamano *et al.*, 2018). Dependiendo del tipo de sustituyente que posea la molécula, esta se caracteriza como clorofila a o b (Figura 2). De una manera más específica, la clorofila a es color verde azulado, mientras que la clorofila b es verde amarillento (Indrasti *et al.*, 2018). Observando la estructura de la clorofila, se puede notar cómo posee anillos con enlaces dobles, lo que hace que estos enlaces π sean susceptibles a cambios debidos a las condiciones ambientales en las que se encuentra. Dichos cambios estructurales, estimulados por las condiciones ambientales en las cuales se encuentra la molécula, son evidentes mediante cambios de color y disminución en la funcionabilidad del pigmento. A esto se le suma que su átomo central de Mg, también sufre cambios dependiendo de las condiciones lo que altera el color y la funcionalidad de la molécula.

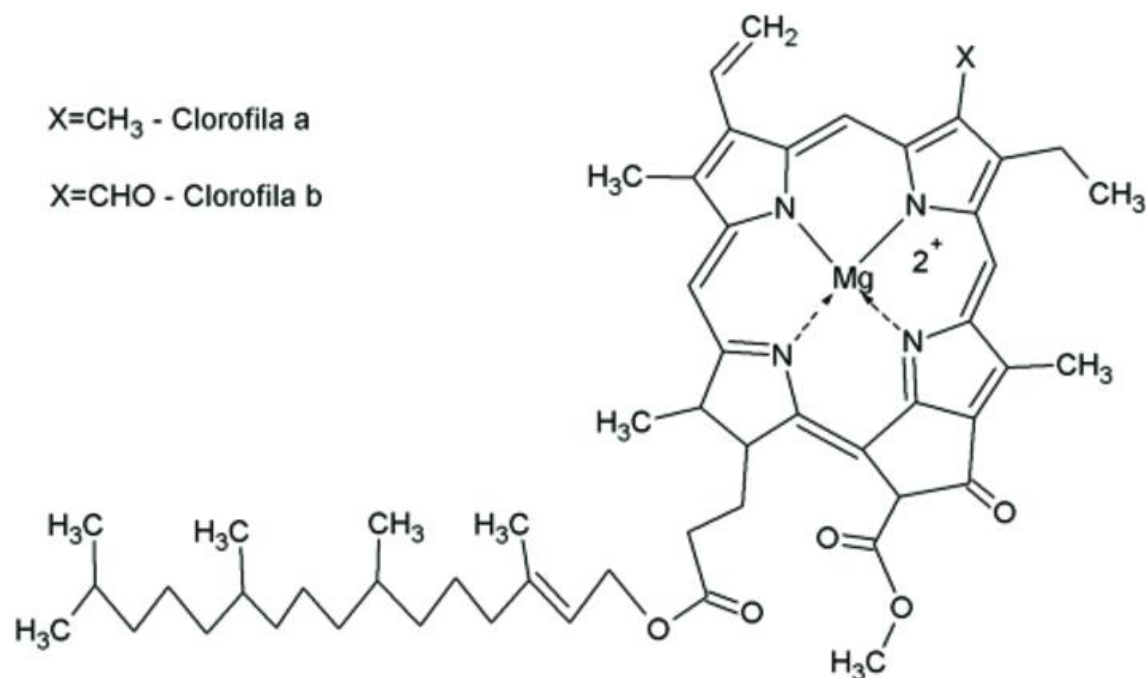


Figura 2. Estructura de la clorofila (Vallejo *et al.*, 2018).

De igual manera cómo ocurre con la ficocianina, la clorofila puede ver su estructura alterada por las condiciones a las que se expone. Condiciones de pH más ácido o básico que el valor ideal, van a tener un efecto sobre el anillo con el átomo central de Mg, esto a su vez genera un cambio en el color de la clorofila, y un cambio en la funcionalidad de la molécula (Indrasti *et al.*, 2018). Por otra parte, se puede dar un deterioro debido a la temperatura a la que se expone el tejido vegetal. De esta forma la clorofila puede verse afectada por condiciones ambientales y de procesamiento.

3.1.5. Efectos de la espirulina para la salud

Enfocándose en la ficocianina específicamente, se han reportado una serie de beneficios importantes relacionados al consumo de este compuesto y de la espirulina. La mayoría de estos efectos han sido estudiados de manera superficial en humanos, siendo los principales sujetos de estudio, ratas, ratones e incluso peces. Últimamente, se ha dado un aumento en la cantidad de estudios que utilizan humanos, dando así más claridad sobre los procesos bioquímicos mediados por compuestos presentes en la espirulina, que ocurren y tienen un efecto positivo en la salud humana.

3.1.5.1. Efecto antiviral

Una de las aplicaciones más relevantes que se ha documentado con respecto al uso de espirulina, es la inhibición de una serie de virus. Investigaciones que datan de 1996 ha demostrado que un polisacárido aislado de un concentrado de espirulina llamado espirulano de calcio (Ca-SP), ayuda en la inhibición de virus como *Herpes simplex*, HIV-1 y el virus de la influenza (Nuhu, 2013). Llama la atención la mitigación en los efectos del virus de HIV-1, en un estudio realizado se encontró que personas con un suplemento dietario de 10 g de espirulina diarios, fueron suficientes para lograr la disminución de cargas virales, inclusive 6 meses después de terminado el tratamiento (Ngo-Matip *et al.*, 2015). Esto se debió al aumento de células CD-4 o linfocitos T4, mientras que el grupo control presentó una disminución de estas células protectoras. Se presume que la razón por la que se da este aumento de linfocitos, es ya que un compuesto llamado Cianovirin-N, la cual es una proteína capaz de unir carbohidratos, inhibe el virus HIV-1 y otras células virales (Balzarini, 2007).

3.1.5.2. Efecto antioxidante

Otra de las aplicaciones más comunes que son reportadas para el uso de espirulina, es su potencial antioxidante. Esto es debido, como se mencionó anteriormente a la C-PC, más específicamente a uno de sus componentes, la ficocianibilina (PCB) (Figura 1), que es una cadena que se extiende de esta estructura. La PCB es capaz de estabilizar una gran cantidad de radicales, como O₂, ONOO y ROO, mediante la oxidación de los dobles enlaces de su estructura (Fernández-Rojas *et al.*, 2014). Por su parte, otra estructura a la que también se le atribuye un potencial antioxidante son las aloficocianina. La actividad antioxidante de la espirulina es directamente proporcional a la concentración en las ficobiliproteínas, más específicamente al contenido de ficocianina (Nuhu, 2013). Esto determina un gran potencial como un ingrediente nutracéutico el cual puede ser adaptado de acuerdo a las especificaciones y tendencias recientes.

De manera más específica, el consumo de espirulina está relacionado con la prevención y mitigación de efectos adversos por intoxicación debida a la ingesta de metales pesados. La intoxicación por cadmio genera una reducción de los compuestos tiol en las células, lo que a su vez desencadena un desbalance entre los sistemas oxidantes y

antioxidantes (Hoseini *et al.*, 2013). Este desbalance genera un aumento en la producción de radicales libres (RO) en el medio, lo que va a generar un detrimento de biomoléculas importantes como lípidos, proteínas y lipoproteínas. La ingesta de espirulina va a tener un efecto positivo sobre este fenómeno, ya sea de forma indirecta, cuando aumente la actividad de las enzimas peroxidasa y superóxido dismutasa, o de forma directa inhibiendo la peroxidación de los lípidos (Hoseini *et al.*, 2013). De una manera muy similar, si se da una intoxicación por hierro, la cual puede significar un aumento de la lactato deshidrogenasa por la necrosis celular, se ve mitigada con el extracto de espirulina, la cual aumenta la cantidad de enzimas como glutatión reductasa y glutatión peroxidasa (Hoseini *et al.*, 2013). También se puede mencionar que la espirulina puede mitigar efectos del envenenamiento por cloruro de mercurio y plomo. Estos dos compuestos de igual manera causan deterioro de sistemas corporales, como colapso renal, respiratorio y neurológico en el caso del cloruro de mercurio, y alteración de tejidos y disminución del conteo de espermatozoides en el caso del plomo (Hoseini *et al.*, 2013). Estos efectos positivos de la espirulina sobre metales pesados son atribuido al contenido de vitamina C, vitamina E, betacarotenos, enzimas como la superóxido dismutasa, selenio y el pigmento ficocianina (Sharma *et al.*, 2013).

3.1.5.3. Anticancerígeno

Por su parte, aunque no se han presentado estudios concluyentes en humanos, se ha demostrado en estudios con animales que la espirulina tiene una capacidad antitumoral e incluso influye en la una reducción de tamaño de tumores cancerígenos. Esto ha sido relacionado con un extracto de ficocianina obtenido de espirulina enriquecida con selenio (PC-Se), el cual ha demostrado que previene la proliferación de melanina A375 y adenocarcinoma de seno, al interrumpir la apoptosis en humanos (Fernández-Rojas *et al.*, 2014). Aunque esta es una aplicación tecnológica que presenta un poco más de complejidad, abre una posibilidad sobre la aplicación de este ingrediente en productos comestibles con productos a partir de esta materia prima que puedan tener un potencial antitumoral. En roedores se ha logrado reducir el tamaño de tumores en hasta un 30%, al aplicarse extractos de espirulina combinado con *Dunaliella* (Capelli & Cysewski, 2010). Un efecto también atribuido a la espirulina es la inhibición de una proteína de resistencia a multidrogas (MDR-1) a la cual se les atribuye resistencia a medicamentos contra el cáncer en humanos

(Fernández-Rojas *et al.*, 2014). De esta forma, la espirulina no tiene un efecto directo sobre las células cancerígenas, más logra tener efectos sobre otras proteínas que sí ayudan a personas con este padecimiento.

3.1.5.4. Fortalecimiento del sistema inmune

Además de las características mencionadas debidas a proteínas y polisacáridos, se ha evidenciado un efecto en la mejora y fortalecimiento del sistema inmune. Aunque el mecanismo de acción aún no se encuentra bien determinado, se ha reportado que la ingesta de espirulina tiene la capacidad de mejorar la anemia e inmunosenescencia en adultos mayores, aumentando los niveles de hemoglobina, conteo de células y de la actividad de la enzima indoleamina 2,3-dioxigenasa (Selmi *et al.*, 2011). Asimismo, se ha mencionado que la espirulina puede apoyar la recuperación de pacientes, ya que sus componentes funcionales brindan protección ante la toxicidad hepática e inmunosupresión generada por los medicamentos (Ratha *et al.*, 2021; Khafaga & El-Sayed, 2018).

La espirulina media la producción de anticuerpos, aumenta la actividad peritoneal de macrófagos e induce el crecimiento de las células del bazo (Hoseini *et al.*, 2012). En peces ha sido estudiado su efecto de la sustitución de la alimentación con distintos porcentajes de espirulina y los efectos que la misma tiene en la salud. Se ha encontrado que, con la ingesta de espirulina, los peces aumentan la cantidad de hemoglobina, monocitos y granulocitos, independientemente del porcentaje de espirulina que los peces hayan consumido (Abdulrahman & Hamad Ameen, 2013). Esto sugiere que se puede obtener un fortalecimiento del sistema inmune, sin embargo, queda sujeto a investigación en humanos u otros organismos con un sistema inmunológico similar.

3.1.5.5. Efecto neurológico

Otra propiedad de gran relevancia que se atribuye a la espirulina es un efecto positivo sobre condiciones y desórdenes neurológicos. Parte de las facultades atribuidas se deben al potencial antioxidante de las ficobiliproteínas en general. La espirulina tiene un efecto anticiclooxigenasa-2 y antioxidante, lo que reduce la oxidación generada por los peroxinitritos que dañan el ADN y generan isquemia cerebral (Sinha *et al.*, 2018). Dos estudios distintos realizados con ratas han demostrado características positivas relacionadas con el consumo de

la espirulina, entre ellos, su potencial de reducir el volumen de las lesiones cerebrales sufridas en la enfermedad del Parkinson de acuerdo a lo encontrado por Stömberg *et al.*, (2005) (Hernández-Lepe *et al.*, 2015) y su capacidad de disminuir factores neurotróficos derivados del cerebro, así como alteraciones en la forma de algunas neuronas en la amígdala basolateral, ambos efectos inducidos por la exposición a estrés y que se vieron mitigados por la suplementación dietaria de espirulina (Moradi-Kor *et al.*, 2020). Por último, se tiene la hipótesis de que el triptófano que se encuentra en la espirulina como un aminoácido esencial puede aumentar la síntesis de serotonina, pues este aminoácido participa como precursor de la biosíntesis de 5-HT, el cual al liberarse participa en la biosíntesis de serotonina (Demelash, 2018).

3.1.6. Calidad microbiológica de la espirulina

La espirulina, al igual que otras materias primas en polvo goza de una calidad microbiológica dependiente de sus condiciones de cultivo y producción. En términos generales, se menciona que esta es una materia prima, la cual al ser rica en ciertos nutrientes como proteína y algunos carbohidratos, tiene el potencial de ser un buen medio de cultivo para ciertos microorganismos. De acuerdo a la norma europea, se establece un límite de 10^5 UFC/g de bacterias mesófilas y 10^4 UFC/g de bacterias sulfito reductoras, mohos y levaduras. Por su parte, en cuanto a patógenos, se establece un límite de ausencia para *Staphylococcus* spp, *Escherichia coli* y *Salmonella*. Spp. (Seghiri *et al.* 2019). De esta forma, se puede observar cómo la espirulina en polvo, puede ser un alimento del cual se espera una alta carga microbiológica, por la tolerancia de las normas que esta cumple, sin embargo, cabe recalcar que esta no tolera la presencia de patógenos como *E. coli*. Esto último es de vital importancia, ya que se ha encontrado presencia de este microorganismo en algunas muestras de espirulina comercial, lo que hace que sea el microorganismo patógeno por excelencia (Seghiri *et al.* 2019).

3.2. Jarabes

3.2.1. Generalidades

Los jarabes se definen como una solución acuosa, normalmente con una alta concentración de azúcares la cual puede ser de distintas naturalezas, y requerirse para

distintos fines. En el caso de los jarabes utilizados como alimentos, estos suelen ser soluciones nutritivas obtenidas a partir de almidón y/o inulina (FAO, 2019), los cuales tienen distintas características específicas que son esperadas por los consumidores. En términos generales, los jarabes más utilizados en la industria alimentaria son los de glucosa. Se utilizan jarabes como el de glucosa por su bajo precio ante el aumento del precio de azúcar granulada, además por las facilidades que este producto presenta (Harni *et al.*, 2021). Se menciona como ventaja del uso de jarabes, que al ser productos líquidos su uso es más práctico, y se aprovecha su condición líquida para evitar costos al momento de diluirlo (Richana & Budiyanto, 2011). Por su parte, en el mercado se encuentran otros tipos de jarabes, en su mayoría utilizados como toppings de alimentos, como jarabes de chocolate o caramelo, utilizados en helados, o jarabe de maple, utilizado para acompañar comidas dulces. Esta variedad de sabores en los jarabes es conseguida al mezclar jarabes simples con agentes saborizantes durante el proceso de cocción (Adzinyo *et al.*, 2015). De esta forma, es posible crear una amplia gama de productos a partir de la combinación de jarabes preestablecidos, con sabores nuevos o distintos. En el caso de la espirulina, no se encuentra reportado en la literatura la existencia de un producto con un contenido de espirulina, y las características de un jarabe. Se puede establecer de esta forma, criterios de calidad básicos para los jarabes, los cuales son parte de sus características intrínsecas, las cuales se detallan a continuación.

3.2.2. Viscosidad de los jarabes

De manera general, los jarabes son caracterizados por tener una viscosidad mayor a la del agua. Los jarabes elaborados a partir de frutas son considerados productos altamente viscosos, cuya preparación consiste en la utilización de pulpa de frutas, y agua en punto de ebullición (Adzinyo *et al.*, 2015). Estas condiciones generan una concentración muy alta de azúcares, y derivando a su vez en productos altamente viscosos. Se menciona que de forma general los jarabes pueden tener concentraciones de entre 63° a 72° Brix, debido a su componente mayoritario de azúcar (Al-Farsi *et al.*, 2007). Por su parte, en el Codex Alimentarius (2019), se estipula que los jarabes, como el de glucosa, deben tener un mínimo de 70% de sólidos totales. Tomando esto en consideración, se puede decir entonces que los jarabes tienen una viscosidad considerable, dada en la mayoría de los casos por la cantidad de azúcar que se encuentre en disolución, al ser estas soluciones acuosas de agua y azúcar.

Por su parte, la viscosidad en otros alimentos puede estar dada por los demás nutrientes que se encuentran. Entre estos compuestos que pueden tener un efecto sobre la viscosidad de los alimentos se encuentran las proteínas. Las proteínas, por su tamaño y estructura, pueden tener interacciones importantes con los demás compuestos, haciendo que cambie la reología del producto. Al generar interacciones con compuestos hidrofóbicos o hidrofílicos, y sus respectivas partes de la proteína, se puede ligar más agua, disminuir la disponibilidad de esta y por ende cambiar la viscosidad. Sin embargo, las proteínas que se encuentran en matrices alimentarias pueden verse afectadas por las variables de proceso a las que se someten los productos. Factores como los cambios de pH, cambios de temperatura, fuerza iónica o presencia de aditivos específicos, van a generar que se modifique la conformación de las proteínas y las propiedades de las mismas, incluyendo su influencia sobre la viscosidad de los productos (Gonçalves *et al.*, 2013). Es debido a esto que el pH tiene un papel más importante sobre la viscosidad final de los prototipos, que la diferencia inicial del contenido de espirulina. La espirulina cuenta con proteínas con un significativo efecto espumante, emulsificante y de aumento de viscosidad (Mahajan *et al.*, 2010), debido a su estructura derivada de las globulinas.

Las proteínas globulares pueden cambiar su composición o conformación estructural dependiendo de la presencia de co-solventes, y otras condiciones que se presenten en la solución (Hong *et al.*, 2018). Esto va a generar un cambio en la viscosidad del producto, pues al tener un gran tamaño, las proteínas globulares modificadas van a ocupar más o menos espacio, y también tendrán más o menos capacidad de tener interacciones con otros componentes, lo que a su vez genera un cambio en la reología del producto.

3.2.3. Acidez de los jarabes

En términos generales, los jarabes no son caracterizados por tener un valor determinado de acidez. Los jarabes, dependiendo de la materia prima a partir de la cual hayan sido elaborados, será su valor de pH o acidez titulable. Sin embargo, se menciona que, en algunos casos, la presencia de ácidos orgánicos puede mejorar las propiedades organolépticas de jarabes elaborados a partir de dátiles (Al-Farsi *et al.*, 2007), dándole así a los productos perfiles más ácidos o frutales (Aleid & Haddadin, 2023). De esta misma forma, se menciona que la presencia de ácidos orgánicos en otro tipo de jarabes puede alterar el sabor de los

mismos, resultando en un producto con un sabor general placentero. En términos generales, el pH de un jarabe puede rondar en sus valores más bajos cerca de 3,12 o 3,17 (Adzinyo *et al.*, 2015). Por su parte, se menciona que los ácidos orgánicos con mayor presencia en los jarabes son el acético, butírico, propiónico (Aleid & Haddadin, 2023), así como cítrico y ascórbico (Temagoult *et al.*, 2022), dependiendo de la materia prima a partir de la cual se parte para la creación del producto.

3.2.3. Calidad microbiológica de los jarabes

En términos generales, los jarabes elaborados a partir de azúcar suelen tener una buena calidad microbiológica, sobre todo tomando en cuenta las características del producto, con una alta cantidad de azúcares, y en algunos casos bajo valor de pH. Sin embargo, el problema con la calidad microbiológica de los jarabes radica en el proceso y las materias primas utilizadas. En algunos casos se pueden encontrar fragmentos o cuerpos enteros de insectos, pelo animal, tierra, coliformes totales y fecales, hongos y levaduras (Belé, 2019). En estos casos, los productos resultantes con presencia de alguno de estos factores son considerados como productos con una pobre calidad microbiológica.

Mencionado esto, por el proceso llevado por algunos jarabes, las temperaturas de cocción a las que se llegan, para realizar la concentración de azúcares y evaporación de agua, son suficientes para garantizar la inocuidad del producto. Para un proceso de evaporación en jarabe de caña de azúcar, se pueden utilizar condiciones de temperatura y presión que pueden llegar a 60°C y 600 MPa respectivamente (Chauhan *et al.*, 2017). Asimismo, se mencionan tratamientos térmicos más leves aplicados a los jarabes de azúcar, aplicando temperaturas de entre 93°C y 100°C, esto en el proceso de clarificación de los jarabes (Laksameethanasan, 2012). De esta forma, se previene la presencia de microorganismos potencialmente patógenos o con la capacidad de generar deterioro. En el caso de los jarabes de azúcar, la calidad microbiológica está determinada por los coliformes fecales como *E. coli*, coliformes totales, recuento total aerobio y mohos y levaduras (Belé *et al.*, 2019). En términos generales, al calentar un alimento, los microorganismos presentes se ven afectados por la destrucción de las células vegetativas de estos. Los microorganismos patógenos son caracterizados por destruirse a temperaturas menores que los que causan deterioro, como algunas bacterias y levaduras. Es por esto, que se da la diferencia entre un tratamiento de pasteurización y

esterilización, donde el primero al ser más leve elimina únicamente células vegetativas de microorganismos patógenos, y el segundo elimina todos los microorganismos presentes.

Los microorganismos en los jarabes de azúcar, además de los tratamientos térmicos sufridos pueden verse controlados por condiciones o características de los alimentos. La cantidad de humedad presente en el jarabe puede ser un indicador de la calidad microbiológica (Adzinyo *et al.*, 2015). Esta disminución de la humedad se puede relacionar directamente con la concentración de azúcares, y el aumento del valor de °Brix. Al disminuir la cantidad de humedad, se reduce a su vez la posibilidad de contar con altas cantidades de agua disponible, y la proliferación de microorganismos.

Por su parte, el pH de algunos jarabes también actúa sobre la calidad microbiológica de los mismos. Se menciona que el valor de pH del medio, afecta las condiciones ambientales, las cuales son importantes el crecimiento y supervivencia de los microorganismos (Jin & Kirk, 2018). La variación de pH tiene un efecto sobre las reacciones redox, disolución de minerales y bioaccesibilidad de nutrientes los cuales son vitales para el metabolismo de los microorganismos (Jin & Kirk, 2018). De esta forma, se puede observar cómo el pH juega un papel importante en la prevención del crecimiento microbiológico. La cantidad de ácidos orgánicos que puedan estar presentes en el producto final también tienen un impacto sobre el crecimiento de mohos, levaduras y bacterias (Aleid & Haddadin, 2023). Mediante la combinación de los factores pH y °Brix, se puede llegar a inactivar la fase estacionaria *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* y *Listeria monocytogenes* (Mazzotta, 2001).

3.3. Color

El color representa una de las características más importantes al momento de percibir un nuevo objeto o estímulo. Los alimentos no son la excepción, pues los colores que estos tengan juegan un papel importante en cómo los alimentos son percibidos. De manera general, los colores representan una pista importante para las personas al momento de reconocer otro objeto, ya sea que este sea conocido o no. En el caso de un objeto desconocido o evento desconocido, se puede asociar el color de este a una recompensa o un castigo (Cugelman *et al.*, 2020). Al realizar estas asociaciones se tienen sentimientos positivos o negativos, según

corresponda, hacia el nuevo estímulo. Estos sentimientos son basados en experiencias anteriores, las cuales se van acumulando a lo largo de los años.

3.3.1. Medición del color

Cómo se ha mencionado, el color es uno de los primeros estímulos que las personas perciben de un objeto. Al estar ligado con la vista, su percepción recae en los ojos de las personas, y las señales que estos envían al cerebro. Es en este punto donde las señales enviadas por los ojos a través del sistema nervioso son interpretadas por el cerebro. En términos generales, lo que las personas perciben como color, es la luz que no es absorbida por el objeto que se está mirando, esta luz es procesada por los conos y bastones (Cugelman *et al.*, 2020). Estas células fotosensibles especializadas son las encargadas de procesar, interpretar la luz, y emitir la señal enviada al cerebro (Cugelman *et al.*, 2020). Estas dos células, los conos y bastones se encuentran especializadas en la percepción de distintas características de la luz. En el caso de los conos, estas son células ubicadas en la retina, las cuales, para los humanos y otros primates “del viejo mundo”, se dividen en tres tipos los conos L, M y S, los cuales perciben ondas de larga, media y corta longitud respectivamente, esto le permite discriminar más de un millón de colores distintos (Hulbert & Ling 2017). Por su parte, los bastones son células, de igual forma ubicadas en la retina del ojo, las cuales son sensibles a la luminosidad, cuyo espectro va desde la luminosidad hasta la oscuridad (Cugelman *et al.*, 2020).

A partir del estudio del color, y la influencia que este puede tener sobre las actividades diarias que se desarrollan, se ha requerido establecer parámetros para su medición. Al ser el color una percepción, la interpretación de las personas es de un carácter subjetivo, y depende esta de gustos y experiencias pasadas, es por esto que se ha visto la necesidad de crear medios objetivos para la medición del color los cuales sigan parámetros previamente establecidos por la Comisión Internacional de Iluminación (CIE) (Korifi *et al.*, 2013). Para la evaluación del color de cualquier objeto se basa en tres conceptos distintos, la tonalidad, luminosidad y cromatismo o “nivel de color”. Estos conceptos hacen referencia a lo siguiente.

- Tonalidad: Hace referencia al color por sí solo, y es una combinación de cuatro colores básicos, el rojo, amarillo, verde y azul (OIV, 2006).

- Luminosidad: Se refiere a la cantidad de luz, o falta de esta (oscuridad) que pueda tener la coloración de un objeto (OIV, 2006).
- Cromatismo: Este concepto ilustra el “nivel de color” de un objeto, y se refiere exactamente a la intensidad de los tonos o colores (OIV, 2006).

Es a través de la unión de estos tres conceptos que se logra tener una medida instrumental del color de una forma objetiva. Un colorímetro en este caso es un instrumento que funciona midiendo y colocando valores numéricos a estos conceptos, al colocarlos en una escala para la posterior interpretación de los valores. Se menciona así que un colorímetro determina la claridad (representada con L^*) cómo la medición de la claridad, donde $L=0$ significa negro, y $L=100$ significa color, los valores en el medio dan una idea del aumento de color o luminosidad de la muestra (OIV, 2006). Por su parte, se encuentran otros parámetros a^* y b^* , los cuales determinan la tonalidad del objeto medido por el colorímetro. Estos dos parámetros tienen una dirección, donde los valores positivos ($+a^*$ y $+b^*$) indican tonalidades roja y amarilla respectivamente, mientras que los valores negativos ($-a^*$ y $-b^*$) indican tonalidades verde y azul respectivamente (Korifi, *et al.*, 2013). Dicho esto, a través de la medición del color utilizando un colorímetro y la escala CIELAB, se puede tener una medición objetiva del color de los objetos.

3.3.2 Percepción del color

La percepción del color depende de gran manera del contexto en el cual se esté evaluando el objeto. Uno de los factores que afecta la percepción del color es la cultura, de la misma forma cómo puede ocurrir con el idioma, las culturas generan su propia percepción del color y atribuir, de forma inconsciente, (Cugelman *et al.*, 2020). De igual forma, las relaciones sociales que se tengan con ciertos colores cambian de cultura a cultura, y en el imaginario de una sociedad específica, se generan ciertas relaciones con los colores que no son específicamente iguales a las de otras sociedades. De esta forma se menciona que la paleta de colores varía de cultura a cultura, por lo que las interpretaciones referentes a la percepción de color se deben realizar enmarcadas en el contexto correcto (Cugelman *et al.*, 2020). Cómo se ha establecido entonces, la percepción del color, y cómo este es interpretado por cada individuo, depende de factores externos e internos. Externos en términos de la cultura y otras experiencias o asociaciones, e internos en términos de cómo se interpretan

esos estímulos externos, si son de manera positiva el color asociado se interpreta de esta manera, y viceversa. Dicho esto, hay generalidades que se intentan realizar al hablar de la percepción del color. Los colores se relacionan con experiencias pasadas, y esta asociación es repetida de manera universal en grupos de distintas edades y géneros (Hulbert & Ling 2017). Indicando así que, para un grupo de personas en un mismo contexto, un color es percibido de formas muy similar, y se utilizar un objeto en común para asociarlo (Hulbert & Ling 2017). Es por esto que se debe tener claro que son el contexto y la memoria, dos factores primordiales para comprender la percepción y preferencia del color. No es igual analizar un carro negro, y una manzana del mismo color, no hay asociaciones positivas hacia este segundo objeto, mientras que un carro negro resulta familiar. Es por esto que los colores, aunque sean los mismos, van a tener distintas asociaciones dependientes de los objetos en los que se encuentren.

3.3.3. Influencia del color en los alimentos

Una de las características que puede tener cierta influencia sobre la elección de un producto, por parte de los consumidores es el color se menciona que el color puede generar un efecto positivo en las personas, pues este genera una sensación que atrae al consumidor, sin embargo, no siempre es el caso (Dias *et al.*, 2012). El color de los alimentos puede estar ligado a diferentes factores. Los colores en los alimentos de manera se encuentran dados por los pigmentos presentes en su matiz, y los cambios que estos puedan tener (Rodríguez-Amaya, 2016). Los colores en los alimentos son utilizados por las personas para interpretar su estado de maduración, la calidad de los alimentos y algunas características en ellos que puedan significar un peligro para el consumidor (Hartmann & Siegrist, 2020). En cuanto a los alimentos procesados, el uso de remolacha, espinaca, cúrcuma, tomate entre otros alimentos, ha venido en aumento cómo ingredientes, sobre todo para dar coloración a los productos en los cuales se utilizan (Derndorfer & Gruber, 2017). De esta manera, dependiendo del tratamiento que sufran, estos alimentos son considerados cómo ingredientes o como aditivos. La ventaja que tienen los aditivos alimentarios obtenidos de materias primas naturales cómo las mencionadas anteriormente, sobre otros colorantes en el mercado, es el cambio que se ha venido dando en la implementación de las etiquetas limpias. Los productores han optado por evitar aditivos, reemplazar estos con sustancias naturales y

adoptar técnicas para formas estos aditivos in situ (Derndorfer & Gruber, 2017). Esta es una de las influencias que tiene el color de los alimentos sobre las personas, percibir un alimento cómo más limpio, a partir de los colores que contiene y los ingredientes utilizados.

Por su parte, el color también tiene una influencia importante sobre la percepción del sabor de los alimentos. Se dice que la percepción del sabor, especialmente el reconocimiento y la intensidad del sabor, son mediados por el color de los alimentos (Spence, *et al.*, 2010). Se ve una particular influencia del color en productos con algún tipo de frutas, en bebidas, yogures, así como chocolates recubiertos de azúcar y algunos tipos de pastas (Garber *et al.*, 2000; Calvo *et al.*, 2001; Levitan *et al.*, 2008; Zhou *et al.*, 2015). De esta forma, en el caso de los productos con un contenido de fruta, se puede observar la influencia que tienen los pigmentos naturales sobre la percepción de los alimentos. Es muy difícil desligar el color natural de las frutas y vegetales, de los productos que indican que contienen estos productos. Por su parte, el color de los utensilios que contienen los alimentos también tiene una influencia sobre el sabor de los productos que contienen. El color de los utensilios que contienen los alimentos puede actuar de dos maneras, incrementando o disminuyendo la intensidad del sabor de los alimentos y bebidas que tienen, modificando así la expectativa que se tiene de este producto (Derndorfer & Gruber, 2017).

3.4. Familiaridad

La familiaridad con un estímulo facilita su reconocimiento por parte de las personas, teniendo así un efecto en cómo se percibe un nuevo evento. La familiaridad que se tenga con un alimento juega un rol importante en la aceptación y preferencia, pues disminuye la incertidumbre asociada al producto (Borgogno *et al.*, 2015). Las personas tienen la capacidad de recolectar eventos vividos con gran detalle, de esta forma saben que un objeto, persona o lugar ha sido visto con anterioridad (Bastin *et al.*, 2019). Esto es lo que se reconoce cómo la familiaridad que se tenga con un estímulo. Las personas al encontrarse con un nuevo estímulo recurren a recuerdos pasados con el fin de intentar reconocer elementos de este nuevo estímulo que resulten familiares. De esta forma es más sencillo aceptar o rechazar dicho nuevo estímulo.

3.4.1. Familiaridad en alimentos

Pliner & Salvy (2006) mencionan que actualmente hay una neofobia en los humanos, que afecta inclusive la elección de alimentos, los cuales responden principalmente a un disgusto de las características sensoriales, una sensación de peligro al consumirlo e inclusive un disgusto por el origen del alimento. Esta neofobia, en términos de alimentos, puede ser desarrollada desde etapas infantiles. Se reconoce que todos los niños tienen un nivel de neofobia, relacionado con un patrón de comer de manera selectiva, esto puede determinar los patrones de consumo incluso en edades adultas (Brown *et al.* 2016). Esta neofobia presentada por algunas personas puede ser disminuida al enfrentarse con nuevos alimentos. Además de esto hay un componente cultural que relaciona la neofobia y familiaridad de los alimentos, con el contexto sociocultural en el que se desarrollan las personas. La aceptabilidad de un alimento es una experiencia multidimensional, se menciona que se utilizan elementos de percepción sensorial, memoria, cultura y emociones (Herrera-Corredor *et al.*, 2010), así pues, también hay factores no sensoriales que intervienen en este proceso (Torrice *et al.*, 2019). El patrón de preferencia por alimentos sugiere que hay una aceptación por alimentos debida a la cultura, y genera una predisposición hacia determinados sabores de alimentos (Padulo *et al.*, 2017). De esta forma, la familiaridad con los alimentos también depende del contexto en el que se evalúa. En términos generales, las decisiones que toman las personas, al enfrentarse a nuevos estímulos, están basadas en experiencias pasadas. Hay una fuerte relación entre la familiaridad con un producto, y cómo evalúan las personas un nuevo producto, principalmente porque se basan en experiencias anteriores, donde las personas asumen que su interpretación o decisión fue correcta (Giacalone & Jaeger, 2016), es esta manera, repiten la decisión tomada con anterioridad, para un nuevo estímulo. Se ve ilustrado así, que la familiaridad es un importante recurso utilizado por las personas, para enfrentarse a nuevos estímulos, y nuevos productos en este caso.

3.4.2. Familiaridad con la espirulina en Costa Rica

La tendencia del mercado en busca de productos naturales se ha extendido hasta el punto de buscar también productos libres de colorantes artificiales. Como los productos sin coloración no tienen una buena aceptación en el mercado, la búsqueda de colorantes naturales que coincidan con las características sensoriales del producto, hace que esta sea una tendencia

favorecedora para un producto a base de espirulina (Spence, 2015). Enfocándose un poco más en las aplicaciones alimentarias, y propiedades que le atribuyen un potencial nutracéutico a la espirulina, nace el interés por utilizar esta alga como materia prima. Este es un ingrediente que cumple de forma ideal los supuestos que parten de las tendencias alimentarias actuales, las cuales corresponden, entre otras, al uso de productos con un valor agregado en términos nutricionales y nutracéuticos. Las algas tienen el potencial de ser utilizados como un producto existente en un mercado determinado, un compuesto bioactivo y refinado, o toda el alga puede presentarse como el producto meta (Domínguez, 2013). En términos de la espirulina y en Costa Rica, ya se cuenta con la primera categoría, pues, existen los productos a base de espirulina en forma de polvo o pastilla con un corte más macrobiótico.

4. Capítulo 1

4.1. Objetivo

Establecer la formulación y las condiciones de procesamiento necesarias para el desarrollo de un jarabe de espirulina.

4.2. Metodología

4.2.1. Localización y materiales

Las pruebas de prototipado se desarrollaron en el laboratorio de Análisis Sensorial del Centro Nacional de Ciencias y Tecnología de Alimentos (CITA). Los análisis microbiológico y medición de parámetros fisicoquímicos de los prototipos en las etapas incipientes del desarrollo se llevaron a cabo en los laboratorios de microbiología y análisis fisicoquímico de dicho centro (CITA).

Se utilizó espirulina en polvo de la marca *Sun is Shinning*. Así como otros ingredientes, entre ellos azúcar, jarabe de glucosa, sorbitol líquido, ácido cítrico, ácido ascórbico, miel y agua. Los ingredientes fueron adquiridos en distintos establecimientos encargados en proveer materias primas para la elaboración de alimentos.

Para el desarrollo del prototipo se definió una cantidad de consumo diario de espirulina meta de 3g, según lo reportado por Selmi et al., (2011), quien indica este es el consumo mínimo necesario para generar un efecto funcional en pacientes anémicos.

4.2.2. Diseño experimental

A partir de una revisión bibliográfica se identificaron potenciales condiciones de proceso de producción de un producto tipo jarabe o “*topping*” con espirulina. A partir de dicha revisión se identificaron posibles valores de temperatura, pH y demás condiciones que puedan afectar de manera positiva o negativa la concentración de ficocianina en el producto final.

Además, mediante un estudio de “*benchmarking*”, se identificó la formulación de diferentes jarabes existentes en el mercado, con espirulina en su formulación o no, con el fin de identificar potenciales ingredientes como acidulantes, endulzantes, preservantes y

estabilizantes, así como posibles concentraciones a utilizar en el jarabe de espirulina por desarrollar.

Con base en los resultados obtenidos del “*benchmarking*”, y las pruebas exploratorias de laboratorio, se efectuaron ajustes tanto en las condiciones de proceso, como en la formulación, hasta alcanzar un prototipo de jarabe de espirulina con características sensoriales aceptables. Todos estos ajustes se realizaron procurando mantener la cantidad meta de espirulina diaria planteada inicialmente (3g), por lo cual, siempre que se varió la porción de producto, se modificó el porcentaje de espirulina en la formulación.

Las pruebas de laboratorio y ajustes se detallan en las siguientes secciones.

4.2.2.1. Definición del proceso

4.2.2.1.1 Optimización del perfil de azúcares

Para determinar el balance de azúcares en el producto final se realizaron dos pruebas distintas. Para la primera se realizaron distintos prototipos a escala laboratorio, dejando en una proporción constante la cantidad de agua añadida, ácido cítrico, ácido ascórbico, sorbitol y espirulina. Seguidamente se varió las concentraciones de miel, azúcar y glucosa en el prototipo hasta encontrar una proporción de estos ingredientes que fuera sensorialmente agradable. Las proporciones probadas fueron Sacarosa:Miel:Glucosa / 1:1:1, 1:1:2 y 2:1:2.

La segunda prueba consistió en variar la cantidad de sorbitol en los prototipos, restando los aumentos porcentuales de este ingrediente, del porcentaje total de las otras tres azúcares en partes iguales. Se mantuvo de igual forma, de manera constante, la cantidad de agua añadida, ácido cítrico, ácido ascórbico, sorbitol y espirulina, en el producto final, cada vez que se aumentaba la cantidad de sorbitol, este aumento redujo la cantidad final de los azúcares (miel, sacarosa y glucosa). Se prepararon prototipos con concentraciones de 7 %, 10 %, 20 % y 30 % de sorbitol. Los productos fueron evaluados por un panel sensorial informal (n=4) para asegurar que su perfil fuera aceptable.

4.2.3. Optimización de la cantidad y balance de ácidos

Para determinar la proporción de los ácidos utilizados en el prototipo final, se partió de una formulación fija de los otros ingredientes, y se realizaron variaciones del porcentaje de ácido cítrico, manteniendo constante el porcentaje de ácido ascórbico.

Se partió de la formulación consolidada después del ajuste de azúcares, y se realizaron tres prototipos: 1) un control sin ninguno de los dos ácidos (ácido cítrico y ácido ascórbico), 2) el prototipo 1 con un 1 % de ácido cítrico y 3) el prototipo 2 con un 2 % de la combinación de los dos ácidos (ácido cítrico y ácido ascórbico). Se determinó el pH final de cada uno de los prototipos, y se almacenaron las muestras a temperatura ambiente, para su observación. Un panel sensorial informal (n=4) eligió de entre los prototipos, el que tuviera un mejor perfil sensorial y agrado general.

4.2.2.2. Definición de etapas del proceso

4.2.2.2.1. Definición del método de mezclado

Una vez definido el balance de ácidos y de azúcares en el producto, se procedió a encontrar la forma adecuada para realizar la mezcla de estos ingredientes.

A partir de una búsqueda bibliográfica, se determinaron cuatro posibilidades distintas para realizar este procedimiento. Las cuatro alternativas se pusieron a prueba, utilizando la misma formulación y se tomaron observaciones de los productos obtenidos, para así decidir cuál era la mejor alternativa. Esta decisión se tomó basándose en el tiempo que tomaba el proceso, los costos asociados a la operación (tiempo y consumo energético), y la calidad sensorial del producto final.

1. La primera forma de mezclado consistió en mezclar espirulina con agua, y posteriormente agregar los demás ingredientes. Se utilizó una mezcladora manual, de la marca *Kitchen Aid*, durante un tiempo de cinco minutos, a temperatura ambiente y a velocidad media de mezclado. La prueba se realizó en un *beaker* de 250 mL, con una cantidad de 100 g de producto, utilizando las formulaciones definidas en los puntos anteriores.

2. La segunda forma de mezclado consistió en diluir los azúcares calentando el líquido, y después agregar la espirulina. La primera etapa se realizó con agua a temperatura de 60 °C, y la mezcla se hizo de manera manual haciendo uso de una cuchara. Para la segunda etapa se utilizó una mezcladora manual de la marca *Kitchen Aid* a velocidad media de mezclado, a temperatura ambiente, durante cinco minutos. La prueba se realizó en un *beaker* de 250 mL, con una cantidad de 100 g de producto, utilizando las formulaciones definidas en los puntos anteriores.
3. Para la tercera forma de mezclado se trató de colocar todos los ingredientes juntos y licuarlos sin ninguna mezcla por etapas. Se utilizó una mezcladora eléctrica manual de la marca *Kitchen Aid*, a velocidad media de mezclado, a temperatura ambiente, hasta que se percibiera una mezcla homogénea. La prueba se realizó en un *beaker* de 250 mL, con una cantidad de 100 g de producto, utilizando las formulaciones definidas en los puntos anteriores.
4. La última técnica de mezclado se trató de colocar todos los ingredientes juntos, y mezclar a mano con ayuda de un cucharón, en un baño maría durante cinco minutos. La mezcla no sobrepasó los 60° C. La prueba se realizó en un *beaker* de 250 mL, con una cantidad de 100 g de producto, utilizando las formulaciones definidas en los puntos anteriores.

4.2.5. Determinación de la calidad microbiológica

Se hizo un prototipo del producto con las condiciones y la forma de mezclado definida, se envasó en una botella de vidrio y se almacenó a temperatura ambiente durante una semana. Una vez que se cumplió el tiempo de almacenamiento, se procedió a realizar un cultivo microbiológico en agar papa dextrosa acidificado y agar estándar. A los resultados de dicho cultivo puro se le realizó una tinción de Gram, y una tinción con azul de lactofenol, ambas vistas a través del microscopio. Las mismas se realizaron con el fin de identificar los microorganismos que podrían causar problemas de calidad e inocuidad en el producto.

4.2.6. Definición del tratamiento térmico

Para la definición de los parámetros que se deben cumplir en el tratamiento térmico, se realizó en primer lugar una búsqueda bibliográfica, para identificar el mejor método

aplicable para el producto, el cual eliminara el peligro microbiológico, la presencia de *Escherichia coli* (Seghiri, *et al.*, 2019) y mantuviera la calidad sensorial del producto. Se realizaron ajustes en la formulación, para cambiar los valores de Aw y pH, los cuales funcionarían como barreras extra para prevenir la proliferación microbiológica.

Se inició ajustando el Aw del producto, llevando este a un valor menor a 0.85, pues a un valor mayor a este límite se requiere de un tratamiento térmico para la destrucción de células vegetativas de microorganismos patógenos (FDA, 2014). Para reducir el Aw a este valor, se disminuyó la cantidad de agua, cuyo porcentaje eliminado se redistribuyó entre los siguientes ingredientes: espirulina, sacarosa, glucosa y miel.

Además del cambio en el valor de Aw, se debió reducir el valor de pH a 3.9, para aplicar las medidas definidas reportadas por Mazzotta (2001). Para la modificación de este parámetro de pH, se agregó poco a poco ácido cítrico, hasta conseguir el valor meta, y que se mantuviera un perfil sensorial agradable.

Para el tratamiento térmico, se calculó, a partir de las condiciones dadas temperatura de referencia de 71,1 °C, valor F de 3 s y un valor z de 5,3° C (Mazzotta, 2001), se calculó el valor D a 70 °C. Este es un tratamiento planteado para eliminar 5 log de microorganismos patógenos. Para esto se utilizó la siguiente fórmula, cuyo resultado es en segundos. Se presenta la muestra de cálculo en el Anexo 9.3.

$$ValorD = \frac{F}{10^{\left(\frac{T-T_{Ref}}{z}\right)}} \cdot 60 \quad [1]$$

Una vez que se tuvo el valor D para esta nueva temperatura, se evaluó el tratamiento. Se colocaron distintos sobres laminados con producto, uno por uno, en un baño de agua a ebullición, a los cuales mediante el uso de la estructura de la Figura 3, se les monitoreó la temperatura durante el proceso de calentamiento. De esta manera, se determinó el tiempo necesario para que el interior del producto llegara a 70 °C. Una vez alcanzada esta temperatura, se dejó el tiempo adicional indicado por el valor D. Este fue el tratamiento térmico definido para el producto, el cual se utilizó como base para el resto del estudio.

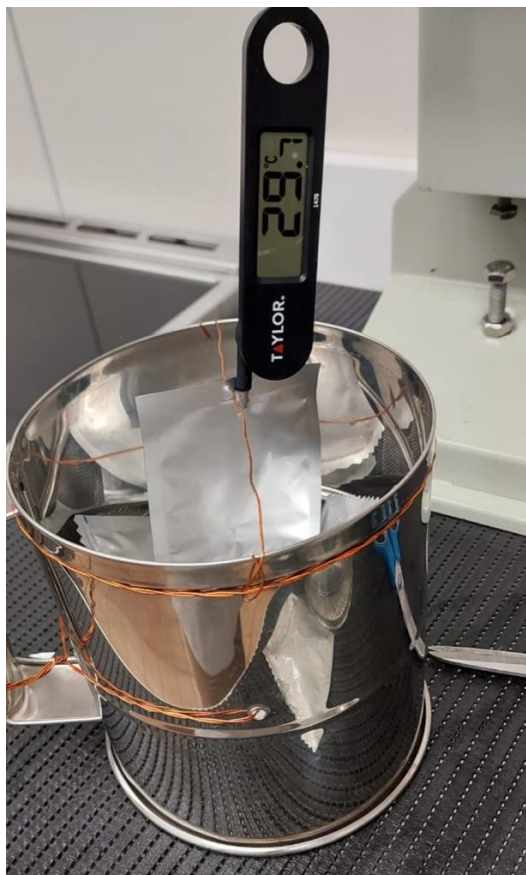


Figura 3. Estructura utilizada para la medición de temperatura de sobres con producto en su interior, para la determinación de las condiciones del tratamiento térmico en la elaboración de un jarabe dulce con espirulina.

Se realizó un cultivo microbiológico en agar papa dextrosa acidificado después del tratamiento térmico, para evaluar su efectividad.

Tomando en cuenta los resultados encontrados en la revisión bibliográfica, las pruebas para optimizar el prototipo y las capacidades de procesamiento disponibles en los laboratorios, se confeccionó un diagrama de bloques del proceso de producción a utilizar.

La aprobación del prototipo final se llevó a cabo por medio de un panel sensorial informal (n=3) conformado por el comité asesor de la tesis, el cual evaluó el nivel de agrado general y específico de los atributos: color, sabor, olor y textura.

4.3. Resultados y discusión

Para la definición de las condiciones iniciales del jarabe de espirulina, se realizó una búsqueda bibliográfica de distintos jarabes presentes en el mercado, con el fin de tener una base. Para esto se tomó como base un jarabe de chocolate, utilizado normalmente como “*topping*”, tomando en cuenta que esta es la apariencia que se pretende imitar en el jarabe de espirulina. La composición nutricional se presenta en el Cuadro I.

Cuadro I. Composición nutricional de un jarabe comercial de chocolate utilizado como “*topping*” (ver Anexo 9.1).

Nutriente	Masa por cada 100 g
Carbohidratos totales	58.27
Proteína	1.62
Grasa total	0.97
Cenizas totales	0.21
Agua	38.93

De acuerdo con lo observado en la tabla nutricional (Cuadro I), se puede calcular un total de sólidos de 61.06 %, por lo que por diferencia se calcula la cantidad de agua en este jarabe con un total de 38.94 %. De esta manera, se puede redondear ambos valores de sólidos totales y agua, a 61 % y 39% respectivamente, teniendo así un valor máximo de agua en el producto de 39 %. Este porcentaje de agua sería el máximo tolerado por producto, en una porción definida en 20 g de manera diaria. La porción fue definida en 20 g, con un contenido de espirulina del 17% aproximadamente, con el fin de tener un producto con una concentración que sobrepase la cantidad diaria propuesta por Selmi *et al.*, (2011) de 3 g diarios. Teniendo esta información en cuenta, se determinó de forma preliminar que podría agregarse al prototipo un mínimo de un 55 % de azúcares de otras fuentes, ya que la espirulina agregada en una concentración de 17%, aporta un 17.8 % (Sharoba, 2014) de carbohidratos, lo cual representan un 3 % de los carbohidratos totales en la formulación. La formulación definitiva del jarabe se presentará más adelante.

Los resultados del estudio de “*benchmarking*” para identificar productos similares en el mercado, se presentan en el Cuadro II. Además, se realizó una búsqueda bibliográfica, para identificar ingredientes que puedan tener algún efecto positivo en la estabilidad de la espirulina y la ficocianina. Los resultados de esta búsqueda bibliográfica se presentan en el Cuadro III.

Cuadro II. Lista de ingredientes de productos modelo, obtenidos a través de un estudio de “*benchmarking*” para la identificación de potenciales ingredientes para la fabricación de un jarabe con espirulina.

Producto	Lista de ingredientes
Jarabe de kola	Agua purificada, azúcar, esencia de kola, benzoato de sodio 0.1%, ácido cítrico 0.03%, color rojo y sabor artificial
Jarabe de alga azul	Jugo de limón Meyer con vainilla, miel, azúcar de caña y alga azul
Jarabe de chocolate	Jarabe de maíz alto en fructosa, jarabe de maíz, agua, cocoa, azúcar, contiene 2% o menos de: sorbato de potasio, goma xantán, sal, mono y diglicéridos, polisorbato 60, vainillina y sabor artificial.

Cuadro III. Ingredientes con potencial funcional en la elaboración de un jarabe con espirulina.

Ingrediente	Concentración a la que presenta efecto positivo en la estabilidad	Referencia
Sacarosa	40.0 % m/v	Chaiklahan <i>et al.</i> , 2012
Sorbitol	10.0 – 40.0 % m/m	Antelo <i>et al.</i> , 2008
Ácido ascórbico	0.4 % m/v	Chaiklahan <i>et al.</i> , 2012
Ácido cítrico	5.0 mM	Kannaujiya & Sinha, 2016

De acuerdo con las formulaciones encontradas, se tomó como base la del jarabe de alga azul donde a grandes rasgos los ingredientes del producto se separan en 4 grupos: 1) los que corresponden a azúcar, 2) agua, 3) ácido y 4) alga. Para definir los ingredientes que componen cada uno de estos grupos se hizo uso de lo encontrado en los Cuadros II y III. En cuanto a los azúcares que se utilizan, se toma la miel del producto de jarabe, sacarosa y sorbitol (como sustituto del azúcar) basado en lo que se encontró en el Cuadro III, y por último se propone utilizar jarabe de glucosa como endulzante. En cuanto a los componentes ácidos, se propone utilizar ácido cítrico y ascórbico, el ácido cítrico utilizado en el jarabe de kola y presente en el limón Meyer del jarabe de alga azul, de la misma forma que el ácido ascórbico. Cabe rescatar, que de acuerdo con lo observado en el Cuadro III, ambos ácidos presentan un potencial efecto positivo en la estabilidad de la ficocianina, pues el ácido cítrico actúa como un agente quelante y disminuye el pH, previendo la degradación de la proteína (Mishra *et al.*, 2010), por lo que refuerza su uso en el prototipo. Se procedió a hacer pruebas para encontrar el balance ideal de azúcares y ácidos en el producto final, que diera un buen perfil sensorial al producto final.

A continuación, se detallan los resultados de las pruebas y cambios realizados con el fin de optimizar el prototipo de jarabe de espirulina.

4.3.1. Optimización del perfil de azúcares

Prueba 1: Balance de azúcares añadidos.

A continuación, se presenta la formulación base con la que se procedió a realizar la prueba de ajuste del perfil de azúcares.

Cuadro IV. Formulación base utilizada para determinar la proporción de los tres diferentes tipos de azúcares en el producto final.

Ingrediente	Porcentaje (%)
Agua	55.00
Espirulina	12.5
Sorbitol	10.00
Ácido cítrico	0.50

Ingrediente	Porcentaje (%)
Ácido ascórbico	0.50
Sacarosa:Miel:Glucosa	21.50

El total de esta formulación correspondió a 78.50 %, el restante 21.50 %, se dividió de distintas maneras entre la miel, glucosa y sacarosa, obteniéndose cuatro prototipos distintos incluyendo el control cómo se muestra en el Cuadro V. De estos prototipos se seleccionó únicamente uno para continuar los ajustes a la formulación, con tal de obtener un prototipo optimizado de jarabe de espirulina.

Cuadro V. Observaciones obtenidas de cada uno de los prototipos generados a partir de la variación de la proporción de los tres azúcares (miel, sacarosa y glucosa), para la determinación del balance ideal de azúcares en el producto final.

Prototipo	Observaciones
Control (únicamente Sacarosa)	Se percibe un sabor desagradable a mar, muy característico de la espirulina.
Prototipo 1 (Sacarosa:Miel:Glucosa/ 1:1:1)	Se percibe menos ácido que el control, y un buen sabor dulce. Se siente también un residual atribuido al sorbitol, que no es completamente agradable.
Prototipo 2 (Sacarosa:Miel:Glucosa/ 1:1:2)	Se siente un sabor residual desagradable. Es menos ácido que el control, pero más ácido que el prototipo 1, por lo que no mitiga mucho el sabor de los ácidos.
Prototipo 3 (Sacarosa:Miel:Glucosa/ 2:1:2)	Es el más ácido de los 3 prototipos, se asemeja al control, pero sin el sabor a alga, por lo que presenta un balance de sabor dulce y ácido agradables.

Observaciones tomadas a partir de un panel informal n=2.

Tomando los resultados obtenidos en esta primera prueba, se sigue adelante con el prototipo 3, pues, aunque se percibe más ácido que los demás, este no es un atributo desagradable. Sumado a esto, en comparación con el prototipo 1, que también tiene un perfil

de sabor aceptable, el prototipo 3 va a ser menos costoso, por tener una menor cantidad de miel que el prototipo 1. En el caso del prototipo 3, se agregan dos partes de sacarosa y glucosa, por cada parte de miel.

Prueba 2: Determinación del porcentaje de sorbitol en el producto final.

Los prototipos que se fabricaron para la prueba con el sorbitol fueron 4: sorbitol al 7 %, 10 %, 20 % y 30 %. La cantidad extra agregada de sorbitol se descontó de la cantidad de azúcar, siempre manteniendo la proporción seleccionada anteriormente (Sacarosa:Miel:Glucosa/ 2:1:2). Los prototipos con las concentraciones menores de sorbitol (7 % y 10 %), tienen un sabor agradable y mantienen el perfil ácido del prototipo. En contraste, a partir del 20 %, se percibió un sabor residual desagradable atribuido por el sorbitol. Por esta razón, se selecciona la concentración de un 10% para la formulación definitiva, pues se mantienen un perfil sensorial agradable, y además es la concentración mínima reportada a la que se presenta un efecto protector de esta sustancia sobre la ficocianina (Antelo *et al.*, 2008).

4.3.2. Optimización de la cantidad y balance de ácidos

La prueba de balance de ácidos tomó en cuenta la formulación obtenida a partir del Cuadro IV, agregando el 21.5 % restante, haciendo un ajuste de azúcares en una proporción de Sacarosa:Miel:Glucosa/ 2:1:2.

Cuadro VI. Valor de pH obtenido para cada uno de los prototipos elaborado en la determinación del balance de ácidos, para la formulación final de un jarabe dulce con espirulina.

Prototipo	pH
Control (0% Ácido cítrico y 0.4% de Ácido Ascórbico)	6.68
Prototipo 1 (1% Ácido cítrico y 0.4% de Ácido Ascórbico)	3.96
Prototipo 2 (2 % Ácido cítrico y 0.4% de Ácido Ascórbico)	3.34

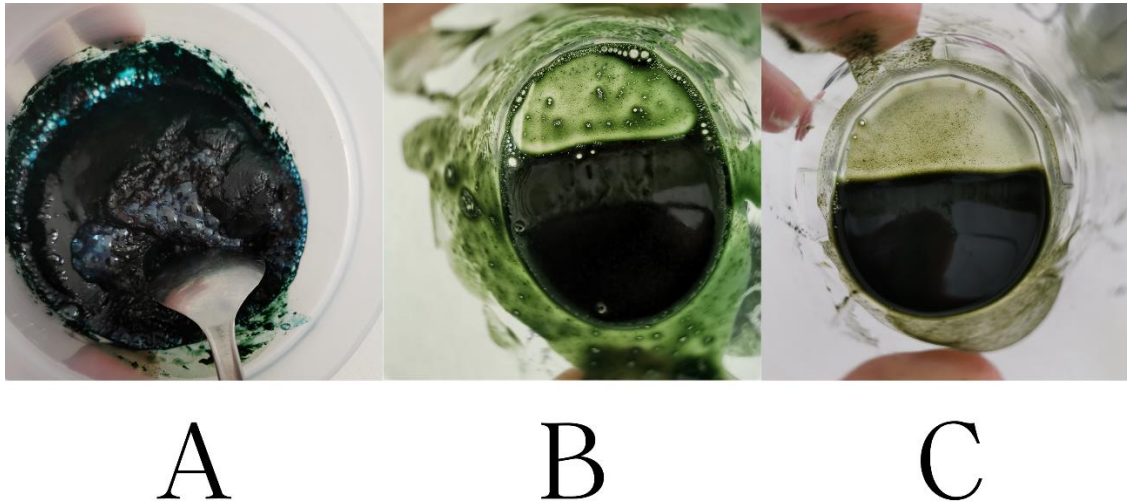


Figura 4. Apariencia del control (A), prototipo 1 (B) y prototipo 2 (C), después de 4 días de almacenamiento a temperatura ambiente, para determinar el balance de ácidos, para la formulación final de un jarabe dulce con espirulina.

De acuerdo con lo obtenido, se puede observar cómo el uso de ácidos es necesario, pues según lo que se observa en la Figura 4A, sin ningún ácido en la formulación, se presenta una muy baja estabilidad del producto. Se da una alteración de la apariencia física, generación de olores desagradables, y textura gelatinosa, lo que sugiere una contaminación microbiológica. En cuanto a los prototipos 1 y 2, se selecciona el primero. Al tener un valor de pH de 3.96, se promueve un buen control sobre los microorganismos, también, como se observa en la Figura 4B, mantiene un color agradable y apariencia similar a la de un jarabe comercial. En contraste, el prototipo 2, también presenta un pH bajo (3.34) con un buen control microbiológico, y buena apariencia, sin embargo, exhibe un pardeamiento del jarabe. Esto podría deberse al cambio de la conformación de la clorofila, la cual en presencia de un pH tan bajo presenta una menor estabilidad (Zheng, 2014). Esto supone una alteración de otros componentes en el jarabe. Por esta razón, se elige la formulación del prototipo 1 (1% ácido cítrico y 0.4% de ácido ascórbico) para aplicar en el producto final.

De esta manera, la formulación final seleccionada para continuar con el desarrollo del prototipo es la que se muestra a continuación, en el Cuadro VII.

Cuadro VII. Formulación preliminar del prototipo de jarabe dulce con espirulina, para la elaboración de un producto comercial.

Ingrediente	Porcentaje (%)
Agua	48.6
Espirulina	15.0
Sacarosa	10.0
Sorbitol	10.0
Glucosa	10.0
Miel	5.0
Ácido cítrico	1.0
Ácido ascórbico	0.4

4.3.3. Definición del método de mezclado

Los resultados de las pruebas de los distintos métodos de mezclado se presentan a continuación tabulados en el Cuadro VIII, así como también bajo la forma de imágenes que ilustran la apariencia final de los prototipos una vez mezclados con las distintas maneras de probar los prototipos.

Cuadro VIII. Observaciones finales obtenidas después de aplicar cuatro técnicas distintas de mezclado, para la formulación de un jarabe dulce con espirulina.

Método	Descripción	Observaciones
1	Mezclar espirulina con agua, y después agregar los demás ingredientes.	La mezcla inicial de espirulina con agua es muy espesa, por lo que se dificulta diluir después los ácidos y azúcares utilizados, afectando el sabor, que es muy específico a mar. No se percibe un sabor homogéneo, pues en ocasiones se percibe más ácido, o más dulce, variando cada vez que se prueba.

Método	Descripción	Observaciones
2	Diluir los azúcares calentando el líquido, y después agregar la espirulina.	Se da un leve pardeamiento de la espirulina al entrar en contacto con una solución caliente de azúcar, glucosa, miel, sorbitol y agua. El pardeamiento es debido a una temperatura excesiva, a la cual se expuso la clorofila de la espirulina. Su sabor no es desagradable, se percibe más homogéneo.
3	Colocar todos los ingredientes juntos y licuarlos.	Se da una buena mezcla de los ingredientes, de manera homogénea, sin embargo, se presenta cierta dificultad a la hora de realizar la homogenización, se debe invertir bastante tiempo. Finalmente, el producto, tiene una menor viscosidad.
4	Colocar todos los ingredientes juntos, y mezclar a mano en un baño maría.	Se da un mayor pardeamiento del producto final, desprendiendo aromas desagradables durante la preparación. Su sabor no es agradable, pues se siente quemado, y su sabor residual opaca el sabor dulce y ácido aportado por los demás ingredientes.

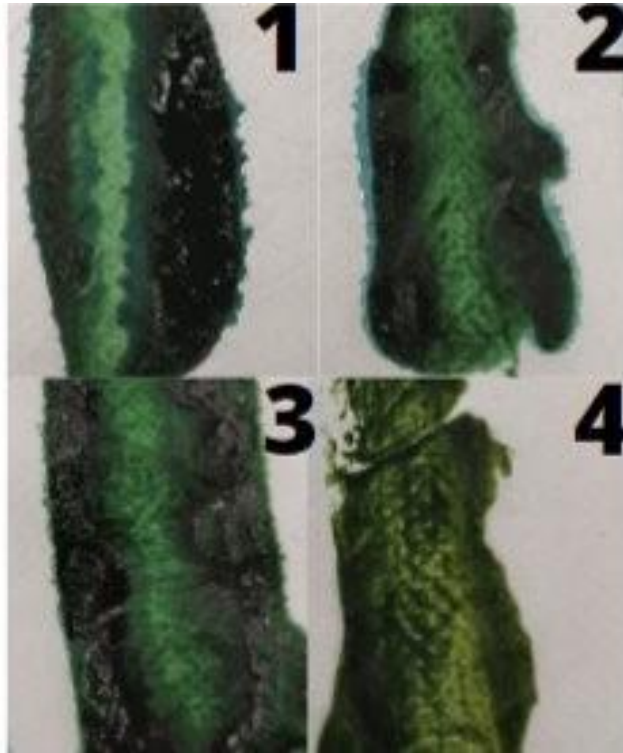


Figura 5. Colores observados para los prototipos de jarabe dulce con espirulina, al evaluar diferentes técnicas de mezclado y preparación del prototipo.

De acuerdo con lo observado en la Figura 5, el método de preparación 4 genera el producto con un mayor detrimento del color verde. Esto está relacionado con la clorofila, lo que supone a su vez, un mayor deterioro de los otros nutrientes.

Por otro lado, el método de preparación 2, genera un prototipo en el cual se observan tonos verdes azulados. Tomando en cuenta los tonos azules en la espirulina, debidos a la presencia de ficocianina, se puede decir que esta forma de preparación tiene la particularidad que expone la ficocianina, y esta se encuentra más disponible.

Por último, se observa que los métodos de preparación 1 y 3, generan productos con un color similar, indicando que no se da una alteración significativa de la clorofila, al no exponerse a altas temperaturas.

Tomando en cuenta lo discutido anteriormente, se decide utilizar una combinación de los métodos 2 y 3, para la preparación del prototipo. De esta forma, se acuerda mezclar

primero el azúcar, con agua, miel, glucosa y los ácidos, haciendo uso de una mezcladora manual. Después de esto, se mezcla, sin calentar, la espirulina en esta disolución, haciendo uso de la misma mezcladora. Las aspas de esta mezcladora (Anexo 9.4.), se eligieron de tal forma que se logren disolver los azúcares y ácidos, pero que, al agregar la espirulina, se pueda hacer una homogenización de la mezcla. A diferencia de otras aspas que se probaron, estas no presentan hojas filosas, las cuales promueven mayor ruptura de la pared celular de la espirulina, un efecto no deseable, en el cual la ficocianina se expone ante condiciones de proceso o almacenamiento que pueden afectar su configuración

4.3.4. Determinación de la calidad microbiológica

Durante el almacenamiento, el jarabe de espirulina presentó un cambio de apariencia y generación de olores desagradables. Los resultados de los cultivos microbiológicos se muestran en la siguiente Figura 6.

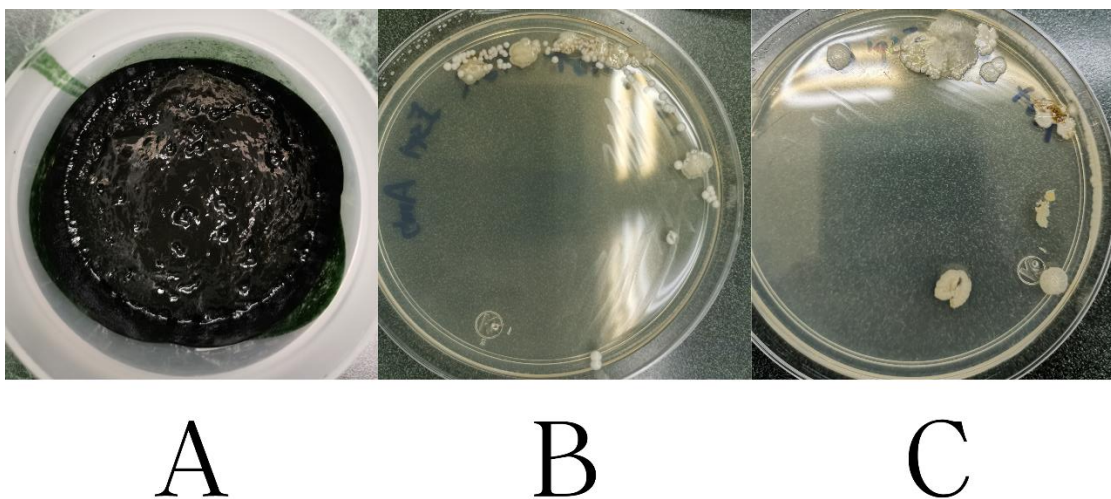
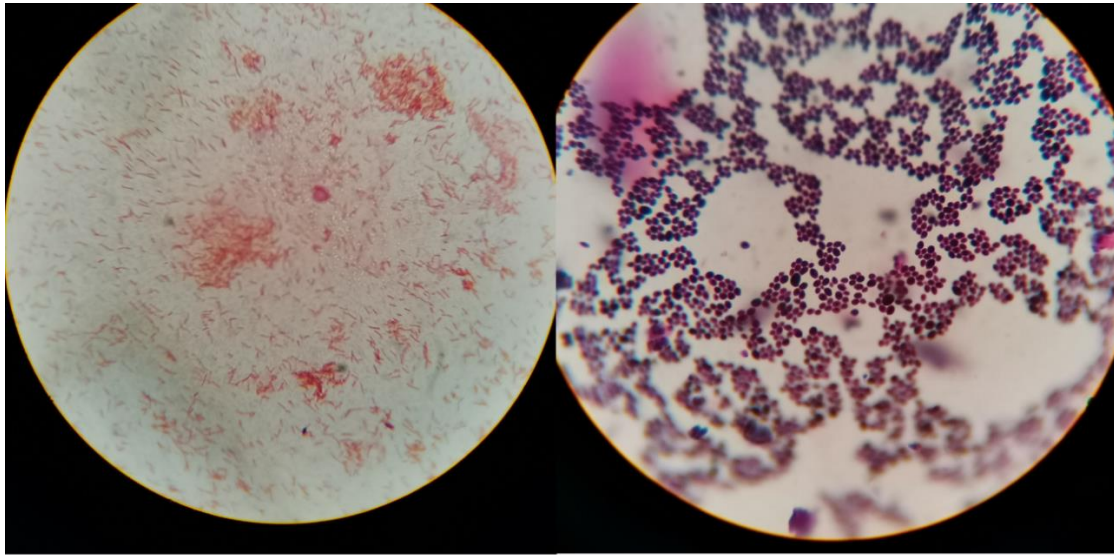


Figura 6. Resultados de un rayado realizado a partir de una muestra de jarabe dulce con espirulina deteriorado (A) llevado a cabo en agar estándar (B) y agar papa dextrosa acidificado (C).

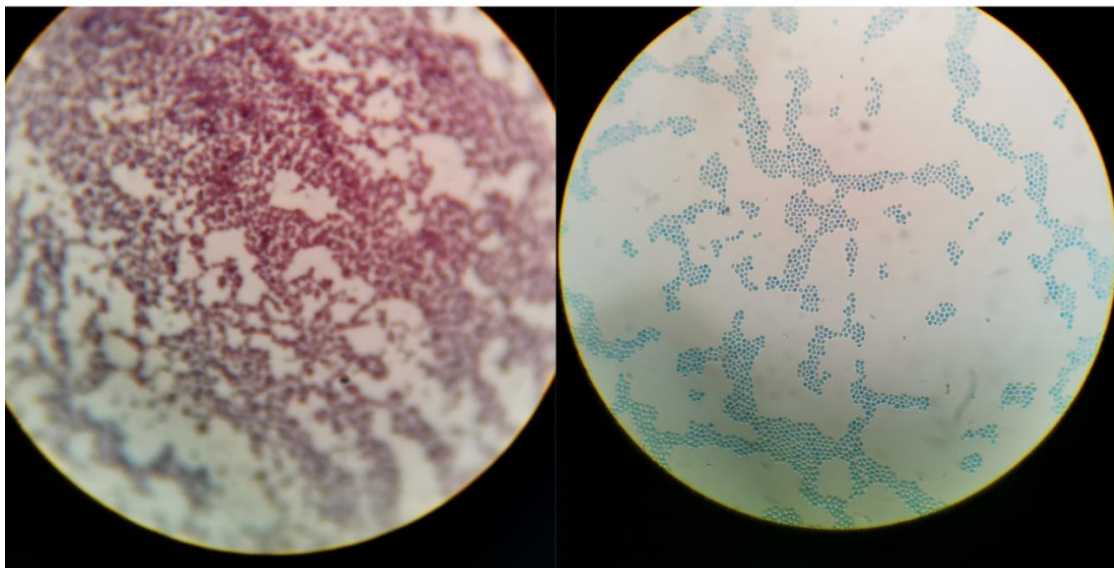
Se confirmó por medios estos cultivos, que el origen del cambio de apariencia en el producto, y la generación de malos olores, son de carácter microbiológico.

Adicionalmente, se realizó una tinción de Gram, seleccionando colonias con distintas morfologías se presentan a continuación en la Figura 7. Observando los resultados, al con una morfología cocos Gram positivos, se realizó una tinción con azul de lactofenol, con el fin de confirmar si se tratan de bacterias cocos Gram positivas o levaduras. En este caso se confirma que se cuenta con levaduras en el producto final. A partir de los resultados mostrados en la Figura 7 se concluye que es necesario realizar un tratamiento térmico al producto, con tal de mejorar la calidad y asegurar la inocuidad del alimento. De las cuatro colonias muestreadas, se obtuvieron que en tres de estas se trata de levaduras. Por esta razón se cree que el mayor problema son las levaduras, sin obviar la posibilidad de que haya otros microorganismos patógenos. Para esto se propone realizar un tratamiento térmico leve, tomando en cuenta el daño que sufre el producto al ser expuesto al calor, como se vio en pruebas anteriores.



A

B



C

D

Figura 7. Resultados de la tinción de Gram para dos morfologías distintas identificadas en un cultivo puro de un jarabe dulce con espirulina (A, B, C), y una tinción de azul de lactofenol (D).

4.3.5. Definición del tratamiento térmico

A partir de una revisión bibliográfica y los resultados observados durante la experimentación en el laboratorio se definió que el tratamiento térmico ideal sería una pasteurización, pues este un producto con un valor de pH bajo, así como la posibilidad de contar con un valor de Aw bajo, permitiendo que esta característica funcione como barrera ante posibles microorganismos patógenos. Además, con la pasteurización se garantiza un menor daño a los nutrientes del producto, lo cual es una característica importante. Al incorporar vitamina C en su formulación, así como los micronutrientes presentes de forma inherente en la materia prima, se busca tener el menor daño posible, por lo que se prefiere una pasteurización sobre una esterilización para este producto.

Debido a la poca información referente a un producto similar al desarrollado, se utiliza un tratamiento aplicable para productos de distintas naturalezas, efectivo para la eliminación de *Escherichia coli* O:157 H:7, *Salmonella* sp. y *Listeria monocytogenes*. Para el tratamiento térmico aplicable a productos con el fin de erradicar estos microorganismos, Mazzotta (2001) propone que el alimento debe tener unas condiciones mínimas de pH de 3.9 y un Aw de 0.85. Por la formulación del alimento, ya se cumple con el pH de 3.9, sin embargo, se cuenta con un Aw de 0,92. Debido a esto se debe disminuir el mismo.

Para la disminución de Aw al valor meta de 0.85, se redujo la cantidad de agua en la formulación presentada en el Cuadro VII, pasando de 48.6 % a un 23.0 %. El porcentaje eliminado de agua se redistribuyó entre la espirulina, la sacarosa, la glucosa y la miel. En principio, se definió un aumento de los distintos azúcares para que se obtuviera un 17.0 % de sacarosa y glucosa, y un 8.5% de miel, con el fin de mantener la proporción 2:2:1 de sacarosa:glucosa:miel, definida anteriormente.

Aún con este cambio, no se logró llegar al valor meta de Aw, por lo que se siguió aumentando el valor de sacarosa en el producto, al ser este el ingrediente de menor costo de estos tres. El porcentaje restante para completar el 100% de la formulación fue adicionado a la cantidad de espirulina que se encontraba en el producto, con el fin de mantener la cantidad de espirulina en el producto final en 3.5 g. Con estos cambios se obtuvo valores finales de

espirulina 17.35 %, sacarosa 22.25 %, glucosa 17.00 %, y miel 8.50 %. Considerando estos ajustes en la formulación, se logró tener un valor de Aw de 0.847.

En cuanto al cambio de pH, si bien es cierto, el pH final del prototipo se acercaba mucho a este valor, por el aumento de la concentración de algunos ingredientes, se tuvo que reajustar la cantidad de ácidos en el producto. Se definió 3.9 como el límite, pues a este valor de pH se trabaja de buena manera la inhibición de microorganismos, y se pueden tener tratamientos térmicos más leves, esto gracias a la interacción que existe entre la termorresistencia microbiológica, y el valor de pH. Inicialmente se tenía un pH de 3.96, con el leve aumento en el valor de pH se tuvo que agregar poco a poco ácido cítrico hasta que se llegara a un valor de pH menor a 3.9. Finalmente, se logró ajustar el pH a un valor de 3.87, al agregarse en total un 1.50 % de ácido cítrico, un 0.40 % más que la primera formulación. Con estos ajustes, se obtiene la siguiente formulación, detallada en el Cuadro IX. Se obtuvo un leve cambio del perfil sensorial del producto aprobado con anterioridad, sin embargo, este de igual manera contó con la aprobación del comité asesor (n=3).

Cuadro IX Formulación final consolidada del prototipo de jarabe dulce con espirulina, con un valor de pH menor a 3.9 y un valor de Aw menor a 0.85.

Ingrediente	Porcentaje (%)
Agua	23.00
Espirulina	17.35
Sacarosa	22.25
Glucosa	17.00
Sorbitol	10.00
Miel	8.50
Ácido cítrico	1.50
Ácido ascórbico	0.40

Cuadro X. Valores de pH y Aw del producto final.

Parámetro	Valor
pH	3.86 ± 0.05
Aw	0.8582 ± 0.0005

Una vez consolidada la formulación final, se definieron las condiciones a las que se realizaría el tratamiento térmico. Para esto se tomaron en consideración los valores de pH y Aw presentados en el Cuadro X. Este se aplicó con el producto ya empacado (aproximadamente 20 g) en bolsas metálicas resistentes al calor (temperatura), tipo *pouch* de 8 cm de largo por 10 cm de largo, selladas, en un baño de agua hirviendo, la cual se estandariza a una temperatura de 95 °C. Se calculó el valor D a una temperatura de 70 °C, y su resultado fue de 4.83 s. Una vez establecidas estas condiciones, se realizó una prueba colocando el sobre con producto en agua hirviendo, con una sonda se monitoreó la temperatura en su interior, y se tabuló el tiempo que tardó en llegar a 70 °C.

Cuadro XI. Tiempos en los que cada sobre tardó en llegar a una temperatura de 70 °C para definir el tratamiento térmico de pasteurización.

Prueba	Tiempo para llegar a 70 °C (s)	Tiempo total del tratamiento térmico (s)
1	33.67	38.67
2	28.91	33.91
3	26.1	31.10
4	20.72	25.72
5	17.62	22.62
6	29.11	34.11

Con los resultados obtenidos del Cuadro XI, se estableció el tratamiento térmico en 39 s una vez que se coloca el sobre en el baño con agua hirviendo. Se tomó el tiempo mayor como un factor de seguridad, debido a la falta de información sobre la microbiota que acompaña la materia prima. Además de esto, no se toma en cuenta la letalidad acumulada

que recibe el producto durante el proceso de calentamiento, lo cual se aplica cómo otro factor de seguridad. Se realizó por último un análisis microbiológico de los productos tratados térmicamente, para verificar si se dio una reducción de microorganismos, lo cual efectivamente sucedió de esta manera, tal y cómo se observa en la figura 8. Esto indica que el tratamiento térmico puede estar funcionando.

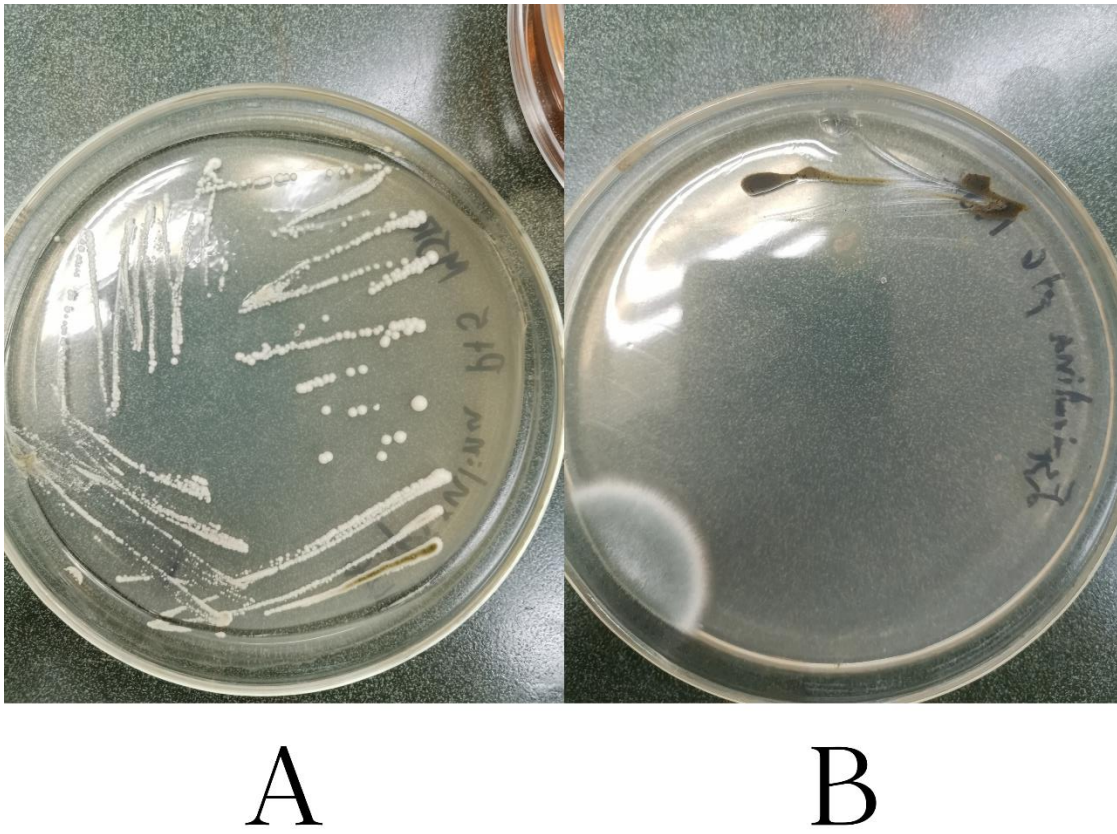


Figura 8. Cultivo puro de un sobre de jarabe dulce con espirulina para la comparación entre el producto sin pasteurizar (A) y después de ser pasteurizado (B).

4.3.6. Descripción del proceso de producción de jarabe de espirulina a escala de laboratorio

A continuación, en la Figura 9, se presenta el diagrama de flujo utilizado para la elaboración de un jarabe con espirulina.

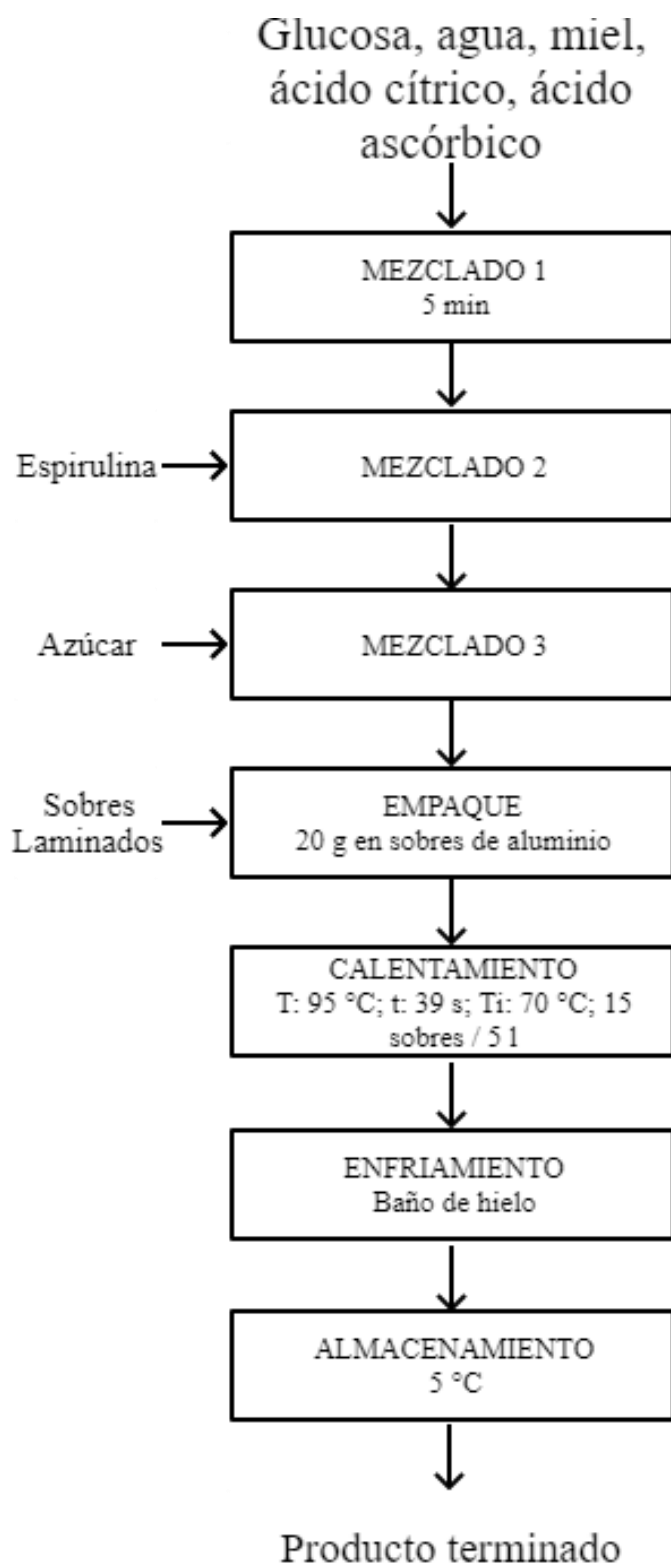


Figura 9. Diagrama de flujo del proceso para la elaboración de un jarabe dulce con espirulina.

Mezclado 1: Se agrega la glucosa líquida, agua, miel, ácido cítrico, ácido ascórbico en un recipiente adecuado y se mezcla con una mezcladora manual de la marca *Kitchen Aid* por 5 min a una intensidad alta. Para esto se utiliza un mezclador mecánico eléctrico.

Mezclado 2: Se agrega la espirulina en polvo poco a poco hasta que se genere una mezcla homogénea tanto en color y textura, se utiliza una mezcladora manual de la marca *Kitchen Aid*, a una intensidad alta, hasta que se observe una mezcla homogénea. Se disminuye la intensidad de la mezcladora a la mitad, esta se puede aumentar si la mezcla se vuelve muy espesa.

Mezclado 3: Se agrega poco a poco la sacarosa mientras se mezcla el producto de manera constante con una mezcladora manual de la marca *Kitchen Aid*, a una intensidad media, a temperatura ambiente, hasta que se observe una mezcla homogénea. Se mezcla el producto hasta tener una apariencia homogénea.

Empaque: se empaca, con una empacadora manual, la cantidad justa de 20 g del producto en sobres laminados de 8 cm por 10 cm, y son sellados con una termo-selladora.

Calentamiento: se realiza un baño de agua hirviendo, esperando que la misma llegue a una temperatura mínima de 95 °C. Se colocan 15 sobres del producto en 5 l durante 39 s en el interior de un baño con agua caliente a una temperatura de 95 °C. Una vez que pasan los 39 s se extraen los sobres del baño de agua hirviendo.

Enfriamiento: se coloca los productos en un baño con hielo y agua, esperando que se disminuya la temperatura externa de los mismos hasta que se llegue a temperatura ambiente y puedan ser almacenados en refrigeración.

Almacenamiento: se colocan los sobres en refrigeración a una temperatura de 5 °C.

Una vez realizados los ajustes el perfil sensorial de la formulación inicial, y el proceso completo se modificó el perfil sensorial tal como era de esperarse. El producto se volvió a validar de manera informal con el comité evaluador antes de continuar con las siguientes etapas.

4.4. Conclusiones y recomendaciones

Con el balance de los azúcares utilizado se logró tener un producto con sabor agradable y textura similar a la de los productos que sirvieron como referencia, así como enmascarar los sabores fuertes típicos de la espirulina. Se logró tener un producto con un perfil sensorial atractivo, que conservara una concentración de espirulina de 3.5 g por porción (aproximadamente 20 g cada porción). Con esta cantidad de espirulina, ingerida de forma diaria, se podría tener un efecto beneficioso para la salud, de acuerdo a lo investigado en la literatura por distintos autores.

Mediante el reajuste de los ingredientes para obtener un producto con un valor de pH de 3.9 y un valor de A_w de 0.85, se obtuvo un producto con una mejor estabilidad microbiológica.

Gracias a la mezcla de ingredientes diseñada para obtener la formulación final, se logró ver un efecto protector positivo sobre la calidad del producto final. Al incluir el ácido cítrico, ácido ascórbico, sacarosa y sorbitol, ingredientes que cumplen un fin técnico, se observó que el producto terminado mantiene un color verde azulado, el cual sugiere una mejor conservación de pigmentos.

El producto final obtenido, se considera susceptible al ataque de microorganismos, por lo que se recomienda que se incorpore algún ingrediente en la formulación, cuya función sea mitigar el crecimiento microbiológico, por ejemplo, preservantes como el sorbato de potasio o el ácido benzoico.

Se comprobó que hay métodos de preparación que afectan en diferente medida el color de la espirulina. Es de vital importancia utilizar ingredientes con un efecto protector sobre la ficocianina, para así conservar el potencial efecto funcional del producto.

Se verifica la importancia de un tratamiento térmico adecuado para asegurar tanto, la inocuidad como la calidad microbiológica. Sin embargo, el tratamiento térmico planteado se considera sobredimensionado para la eliminación de células vegetativas de patógenos, pero no para hacer el producto estable, motivo por el cual se sugiere realizar una optimización del mismo.

5. Capítulo 2

5.1. Objetivo 2

Evaluar el efecto del tratamiento térmico y la modificación de la formulación para la variación de pH, sobre las características de calidad fisicoquímica y sensorial del jarabe de espirulina.

5.2. Metodología

5.2.1. Localización y materiales

Las pruebas de prototipado se desarrollaron en el laboratorio de Análisis Sensorial del Centro Nacional de Ciencias y Tecnología de Alimentos (CITA). Los análisis microbiológico y medición de parámetros fisicoquímicos de los prototipos en las etapas incipientes del desarrollo se llevaron a cabo en los laboratorios de microbiología y análisis fisicoquímico de dicho centro (CITA).

5.2.2. Diseño experimental

Se realizaron pruebas a escala de laboratorio donde se analizó el efecto del tratamiento térmico y la modificación de la formulación con el fin de tener dos productos con valores de pH distintos sobre las características de calidad definidas para el producto. Para esto se utilizó un diseño factorial de dos factores, con dos niveles cada uno (2^2), donde los factores fueron el tipo de tratamiento térmico y la formulación, expresados como los valores de pH finales, y el tratamiento térmico, los valores de ambos factores fueron elegidos a partir de la revisión bibliográfica y las pruebas previas.

Al prototipo base, establecido a partir del estudio de “*benchmarking*” y demás pruebas realizadas en el Objetivo 1, se le aplicaron las variaciones de la formulación para que el valor de pH final del prototipo coincidiera con los valores seleccionados. Además, se modificó la formulación para que coincidiera con el valor de agua disponible fijo y la concentración de espirulina teórica. Una vez obtenidos los prototipos con los dos valores de pH definidos (3.9 y 2.9), se sometieron a dos tratamientos térmicos diferentes (pasteurización y esterilización), diseñados para garantizar la inocuidad del producto. Por último, como

variables respuesta se midieron los parámetros de calidad establecidos para este producto (viscosidad, color y agrado general).

5.2.2.1. Elaboración de los cuatro prototipos

A partir de la versión final del prototipo obtenido en el Capítulo I, cuya formulación se presenta en el Cuadro IX, el cual cuenta con un pH de 3.9 y un Aw de 0.85, se realizaron una serie de modificaciones para obtener dos formulaciones distintas. La diferencia principal entre ambas formulaciones radica en el pH, mientras una de estas tiene un pH de 3.9 (obtenida en el Capítulo anterior), la otra tiene un pH de 2.9. Para realizar esta segunda formulación se realizó un ajuste de pH, así como un reajuste de los demás ingredientes con el fin de tener un Aw final menor a 0.85.

Además, se realizó un segundo tratamiento térmico, basándose en el tratamiento de pasteurización determinado en el Capítulo 1. Para esto, se realizó un tratamiento más severo, de esterilización, el cual se dimensionó utilizando las mismas condiciones utilizadas para el tratamiento de pasteurización.

A partir de la combinación de los factores formulación y tratamiento, se obtuvieron los cuatro tratamientos térmicos que se probaron durante esta sección. Se codificaron los prototipos de la misma manera cómo se presenta en el Cuadro XII.

Cuadro XII. Matriz de tratamientos aplicados a los prototipos de un jarabe dulce con espirulina.

Prototipo	pH	Tratamiento térmico	Código
1	3.9	Pasteurización	P.3.9
2	3.9	Esterilización	E.3.9
3	2.9	Pasteurización	P.2.9
4	2.9	Esterilización	E.2.9

5.2.2.1.1. Ajuste de pH

Para la elaboración de los cuatro prototipos que se evaluaron, se empleó la técnica de mezclado y producción determinada en el Objetivo 1 (ver Figura 9). Se partió de la

formulación definitiva que se encuentra en el Cuadro IX A partir de esta formulación, se realizaron variaciones de pH. Para esto se agregó ácido cítrico hasta obtener una diferencia de 1.0, en su valor final de pH, entre los dos prototipos, siendo los valores finales de pH 3.9 y 2.9 respectivamente. Para el ajuste de pH se realizaron cambios paulatinos en la cantidad de ácido cítrico y ácido ascórbico a partir de la fórmula original (Ver Cuadro IX), modificando levemente los porcentajes de los demás ingredientes para obtener una buena calidad sensorial en el producto final.

Se fijó un valor de pH de 2.9 para el segundo prototipo, y el otro se fijó a pH 3.9 que se obtuvo después de la optimización realizada durante el Objetivo 1. Con un valor de pH de 2.9 se asegura que los parámetros aplicados en un tratamiento térmico de pasteurización, reportados por Mazzotta, (2001) también apliquen para este producto. Se realizaron cambios en la fórmula original de los prototipos con un valor de pH a 3.9, con el fin de ajustar los valores de pH a 2.9 y obtener un perfil sensorial agradable.

5.2.2.1.2. Ajuste del valor de Aw

Se aseguró que el valor de Aw del prototipo con un valor de pH de 2.9 se mantuviera por debajo de 0.85 pues es este el valor de Aw que facilita la destrucción de células vegetativas de microorganismos patógenos de interés (FDA, 2014). Para esto, se redujo el porcentaje de agua, espirulina, sacarosa y glucosa. Esto para contrastar el aumento del porcentaje de ácido cítrico y ácido ascórbico que tuvo el prototipo por el ajuste del valor de pH. Debido a la reducción en la concentración de estos ingredientes en la segunda formulación, se reajustó con el aumento del porcentaje de miel en el prototipo, con el fin de obtener un valor de Aw menor a 0.85, teniendo así las mismas condiciones que los prototipos con un valor de pH de 3.9. La formulación obtenida a partir de estos cambios se muestra en el apartado de resultados.

5.2.2.1.3. Determinación de los dos tratamientos térmicos

Se diseñaron dos tratamientos térmicos, el primero consistió en una pasteurización cuyos parámetros se determinaron con anterioridad (ver sección 5 del Capítulo 1) y el segundo en una esterilización, la cual se detalla a continuación.

La determinación del segundo tratamiento térmico se realizó de la misma manera en la que se hizo la optimización del prototipo en la sección 5 del Objetivo 1. Con un valor de pH de 2.9 se asegura que los parámetros aplicados en un tratamiento térmico, reportados por Padilla-Zakour (2009) (Anexo, 9.2) apliquen para este producto, y para el producto de mayor pH a 3.9. De esta forma, se aplica el mismo tiempo de exposición a altas temperaturas, independientemente del valor de pH que tenga el prototipo.

Se diseñó el tratamiento térmico que fuera más severo, y se aplicara en ambos productos, teniendo así un tratamiento de pasteurización (previamente diseñado) y otro tratamiento de esterilización. Para el tratamiento térmico de esterilización, se calculó, a partir de las condiciones dadas temperatura de referencia de 93.3 °C, valor F de 0.1 min y un valor z de 8.9 °C (Padilla-Zakour, 2009) extraídos del Cuadro elaborado por Padilla-Zakour (2009) (Anexo 9.2), y se calculó el valor D a 90 °C. Este es un tratamiento planteado para eliminar 5 log de microorganismos patógenos. Para esto se utilizó la fórmula [1] (apartado de metodología del Capítulo 1 de este documento), cuyo resultado es en segundos (se presenta una muestra de cálculo en el Anexo 9.3).

Con el valor D para este nuevo tratamiento térmico, se evaluó el tratamiento con el fin de determinar el tiempo total que se requiere para llevar a cabo el proceso. Se utilizaron los productos finales ya empacados en sobres laminados, uno por uno se colocó, en un baño de agua a ebullición, a los cuales mediante el uso de la misma estructura con la cual se probó el primer tratamiento térmico (ver Figura 3), se les monitoreo la temperatura durante el proceso de calentamiento. De esta manera, se determinó el tiempo necesario para que el interior del producto llegara a 90 °C. Una vez alcanzada esta temperatura, se dejó el tiempo adicional indicado por el valor D. Adicionalmente, se esperaron 3 min después del calentamiento antes de colocar los sobres en un baño con hielo para que se disminuyera la temperatura. Este fue el tratamiento térmico definido para el producto, el cual se denominó como esterilización.

5.2.2.1.4. Elaboración de los prototipos

Para la elaboración de los prototipos se realizaron dos lotes madre, de aproximadamente 8 kg cada uno, utilizando para ellos las mismas materias primas

provenientes de lotes iguales. La única diferencia durante la producción de los lotes radicó en la cantidad de ácido cítrico y ácido ascórbico agregado al lote de pH 2.9. Para todos los prototipos se mezclaron los ingredientes siguiendo las mismas especificaciones y mismos equipos (Ver Figura 9).

Los jarabes fueron empacados en sobres laminados con recubierta interior de polímero, con dimensiones de 8 x 10 cm. Los sobres fueron llenados con una llenadora manual la cual se presenta en el Anexo 9.5, fijada para dispensar una cantidad de 22 g de producto por sobre aproximadamente. Los sobres con producto fueron sellados con una termo selladora y se separaron dividieron en dos partes iguales para recibir los tratamientos térmicos respectivos. Al final del proceso se obtuvieron 4 grupos de paquetes con producto, conteniendo cerca de 4 kg en total para cada grupo, dos de estos grupos con producto a pH 3.9 y otros dos de estos grupos a pH de 2.9.

5.2.2.1.5 Elaboración del prototipo azul

Además de los cuatro prototipos de jarabe con espirulina elaborados a partir de la combinación de los dos niveles de tratamiento térmico y los dos niveles de formulaciones distintas, se elaboró un prototipo con espirulina azul como materia prima. Para este prototipo se basó en la formulación realizada para el prototipo con pH a 3.9 (Cuadro IX), y se realizó una sustitución uno a uno de espirulina azul con la espirulina verde, la formulación final de este prototipo se encuentra en el Cuadro XIII. Se siguió el mismo procedimiento para la elaboración de este prototipo, con la excepción de que se hicieron únicamente 4 kg de producto en total. Para el tratamiento térmico se realizó únicamente una pasteurización, siguiendo el procedimiento descrito en el primer Capítulo del presente documento.

Cuadro XIII. Formulación final del prototipo azul de un jarabe dulce con espirulina a un pH de 3.9.

Ingrediente	Porcentaje (%)
Agua	23.00
Espirulina azul	17.35
Sacarosa	22.25

Ingrediente	Porcentaje (%)
Glucosa	17.00
Sorbitol	10.00
Miel	8.50
Ácido cítrico	1.50
Ácido ascórbico	0.40

El producto azul fue utilizado únicamente en la evaluación sensorial, de agrado general, y para los estudios de consumidor. Dichos resultados se exponen y desarrollan en el Capítulo cuatro del presente documento.

5.2.3. Análisis de los parámetros de calidad

5.2.3.1. Análisis de viscosidad

Se realiza una medida de la viscosidad aparente utilizando un reómetro híbrido de la marca TA Instrument modelo Discovery- HR 2 (ver Anexos 9.6). Para realizar la medición de viscosidad, se homogeniza la muestra con agitación en vortex durante 1 minuto y se vierte en el plato de recepción del equipo. Se acerca el plato giratorio hasta una distancia de 1 mm tal y como se muestra en la Figura 10 y se inicia el análisis. La primera etapa del análisis es una adecuación de la muestra a la temperatura de análisis, de 25 °C durante todo el proceso, esta etapa de adecuación tiene una duración de 2 minutos. Seguidamente el equipo inicia con el análisis de viscosidad, la viscosidad se mide como una función de la tasa de corte en un rango entre 0.1 y 100s⁻¹ (Ahmed & Ramaswamy, 2005), con una toma de datos cada 30 segundos aproximadamente. Se calcula el flujo característico de cada muestra en Pa.s (Pongsawatmanit, 2011), así como la tasa de corte en 1/s y el estrés en Pa. Los resultados se recopilaron, procesaron y analizaron estadísticamente mediante un ANOVA multifactorial. En caso de encontrarse diferencias significativas se realizó una prueba de *Tukey* con un valor de α de 0.05, con el fin de encontrar el o los prototipos significativamente distintos.

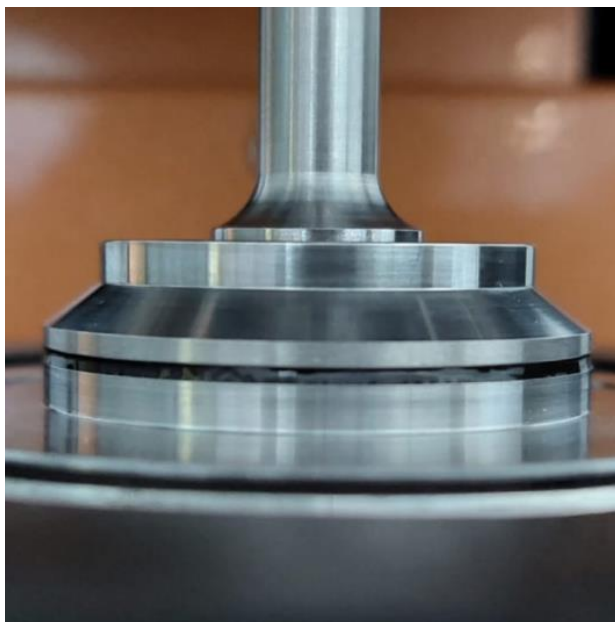


Figura 10. Grosor de la muestra (1 mm) colocado en el plato para la muestra y celda giratoria utilizada para la determinación de la viscosidad de cuatro prototipos de un jarabe dulce con espirulina con valores distintos de pH y distinto tratamiento térmico.

5.2.3.2. Análisis de color

Para la medición del color se realizó una medición de los parámetros L^*a^*b utilizando un colorímetro de la marca Color Flex modelo EZ 45/0 (ver Anexos 9.6) disponible en la Escuela de Tecnología de Alimentos. Se utiliza un ángulo de observación de 10° y un área de medición de 50 mm. Para este análisis se expresa el valor de L^* como la luminosidad (0 = negro y 100 = blanco), el parámetro a^* indica el rojo máximo ($+a^*$) y el mínimo el verde ($-a^*$), y por último el valor b^* indica el color amarillo ($+b^*$) y el color azul ($-b^*$). Las pruebas se realizarán por triplicado para cada una de las muestras obtenidas de cada tratamiento (Grujic *et al.*, 2016). Los resultados se recopilaron, procesaron y analizaron estadísticamente mediante un ANOVA multifactorial. En caso de encontrarse diferencias significativas se realizó una prueba de *Tukey* con un valor de α de 0.05, con el fin de encontrar el o los prototipos significativamente distintos.

5.2.3.3. Prueba sensorial

Se realizó una prueba sensorial de agrado general tomando en cuenta prototipos de jarabe de espirulina presentados en el Cuadro XII cuyas formulaciones y proceso de fabricación se muestran en el Cuadro IX, XV.

Para esta prueba se utilizó una escala hedónica lineal de 10 puntos, con anclajes en ambos extremos y en el punto central para la evaluación del agrado general de cada una de las muestras (Villanueva, *et al.*, 2005)



Figura 11. Escala hedónica utilizada por los participantes del panel sensorial para la determinación del agrado general de los prototipos de jarabe de espirulina.

5.2.3.3.1. Panelistas

Para el reclutamiento de los participantes no se estableció ninguna restricción de nivel educativo o profesión. El 50% de los participantes debía estar familiarizado con el consumo de espirulina y el otro 50% no debía estar familiarizado. Así mismo, por cuestiones logísticas debían ser habitantes de la GAM. Para identificar a estos participantes se utilizó un formulario web (Anexo 9.7).

Participaron un total de 104 personas ($n = 104$), mayores de 18 años, de las cuales la mitad fueron consumidores o se encuentran familiarizados con la espirulina para consumo humano, y la otra mitad de los participantes no se encontraban familiarizados con la espirulina de ninguna manera. El panel constó de 69 mujeres y 35 hombres, entre los 18 y 64 años. De estos 104 participantes, un total de 72 realizaron la prueba de forma presencial en las instalaciones del laboratorio de Análisis Sensorial de la Escuela de Tecnología de Alimentos de la Universidad de Costa Rica, mientras que los restantes 32 completaron la prueba desde sus propias casas. A cada panelista se le dio un consentimiento informado, el cual debían leer y firmar en caso de aceptar las condiciones expuestas (Anexo 9.8).

5.2.3.3.2. Muestras

Se evaluaron los cuatro prototipos resultantes de las combinaciones de valores de pH y tratamiento térmicos tal, los mismos que se presentan en el Cuadro XI. Además, se incluyó una muestra azul, la cual también fue evaluada por los consumidores, sin embargo, para el desarrollo de este capítulo, no se utiliza su valor medio de agrado general. Las muestras de los prototipos se codificaron con un número de 3 dígitos, generado por el programa *Fizz Byosistem* versión 2.47, tal y como se presenta en el Cuadro XIV. Las muestras fueron aleatorizadas para cada uno de los panelistas que participaron en la prueba.

Cuadro XIV. Códigos utilizados para la identificación de las muestras empleadas en la evaluación por el panel sensorial para determinar si los factores formulación y tratamiento térmico tienen un efecto sobre el agrado general de cuatro prototipos de jarabe de espirulina.

Prototipo	Código
Pasteurizado con un pH de 3.9	127
Esterilizado con un pH de 3.9	250
Pasteurizado con un pH de 2.9	738
Esterilizado con un pH de 2.9	549
Muestra azul	894

5.2.3.3.3. Aplicación de la prueba

A cada persona se le presentó una bandeja como la que se muestra en la Figura 12, la cual contiene los cuatro prototipos en sus sobres laminados sellados, un vaso con agua y cuatro cucharas pequeñas debidamente identificadas y rotuladas con los mismos códigos que se presentan en el Cuadro XIV. A los participantes se les pidió que abrieran cada uno de los sobres laminados y probaran como mínimo una cucharada de cada uno de los prototipos que se encontraban en sus respectivas bandejas. Se les pidió a los participantes que siguieran el orden indicado en el formulario al momento de realizar la evaluación.

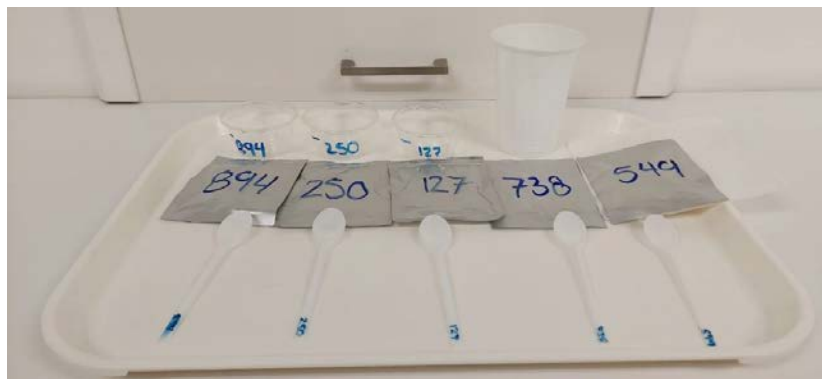


Figura 12. Bandeja presentada a los panelistas para el análisis del agrado general de cuatro prototipos de un jarabe dulce con espirulina con distintos valores de pH y tratamiento térmico.

Se le presentó a los participantes un formulario virtual realizado en el programa *Fizz Biosystemes* versión 2.47. De esta forma se le pedía a cada uno de ellos probar uno a uno los prototipos y marcar con un clic en la escala, el lugar donde se encontrará la mejor descripción para el agrado general de cada uno de los prototipos evaluados. El formulario completo se encuentra en la sección de Anexos (Anexo 9.9). Los datos fueron recolectados a través del programa *Fizz Biosystemes* versión 2.47 y *Fizzweb*.

5.2.3.3.4. Análisis de datos

Para el análisis de datos se utilizó un diseño multifactorial de dos factores (formulación y tratamiento térmico). Se tomaron en cuenta cuatro muestras, las codificadas con los números: 127, 250, 738 y 549. Cada factor tomado en cuenta para el análisis constaba de dos niveles (formulación pH 3.9 y formulación pH 2.9) y (esterilización y pasteurización), respectivamente. La variable respuesta por analizar fue agrado general. Para el análisis se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) utilizando un nivel de significancia del 5% para determinar si existe diferencia significativa del efecto del tratamiento térmico sufrido y la formulación sobre el agrado general de los prototipos. En caso de existir diferencia significativa se aplicó una prueba de comparación de medias de *Tukey* utilizando un $\alpha = 0.05$. Una vez realizado el análisis, se seleccionó el prototipo con los mayores niveles de agrado sensorial. En caso de no encontrar una diferencia significativa, se seleccionó el prototipo que represente un menor costo al momento de producirse y que presente la mayor concentración de espirulina.

5.3. Resultados y discusión

5.3.1. Preparación de los prototipos

Una vez realizados los ajustes de pH y Aw al prototipo obtenido en la sección 5 del Capítulo I se obtuvo la siguiente formulación detallada en el Cuadro XV.

Cuadro XV. Formulación final consolidada del prototipo de jarabe dulce con espirulina, con un valor de pH de 2.9 y un valor de Aw menor a 0.85.

Ingrediente	Porcentaje (%)
Agua	22.00
Espirulina	17.00
Sacarosa	19.60
Glucosa	16.40
Sorbitol	10.00
Miel	8.75
Ácido cítrico	5.65
Ácido ascórbico	0.60

De esta forma, se emplearon la formulación encontrada en el Cuadro IX para los prototipos P.3.9 y E.3.9, y la formulación del Cuadro XII para los prototipos P.2.9 y E.2.9.

Debido al aumento del volumen de producto realizado para esta sección, se realizó un cambio en el procedimiento seguido para la elaboración de los prototipos. Este cambio se ve reflejado en el diagrama de flujo presentado en la Figura 13. Se agregó una etapa de mezclado manual con el fin de facilitar el mezclado automático, con el mezclador de mano eléctrico utilizado anteriormente.

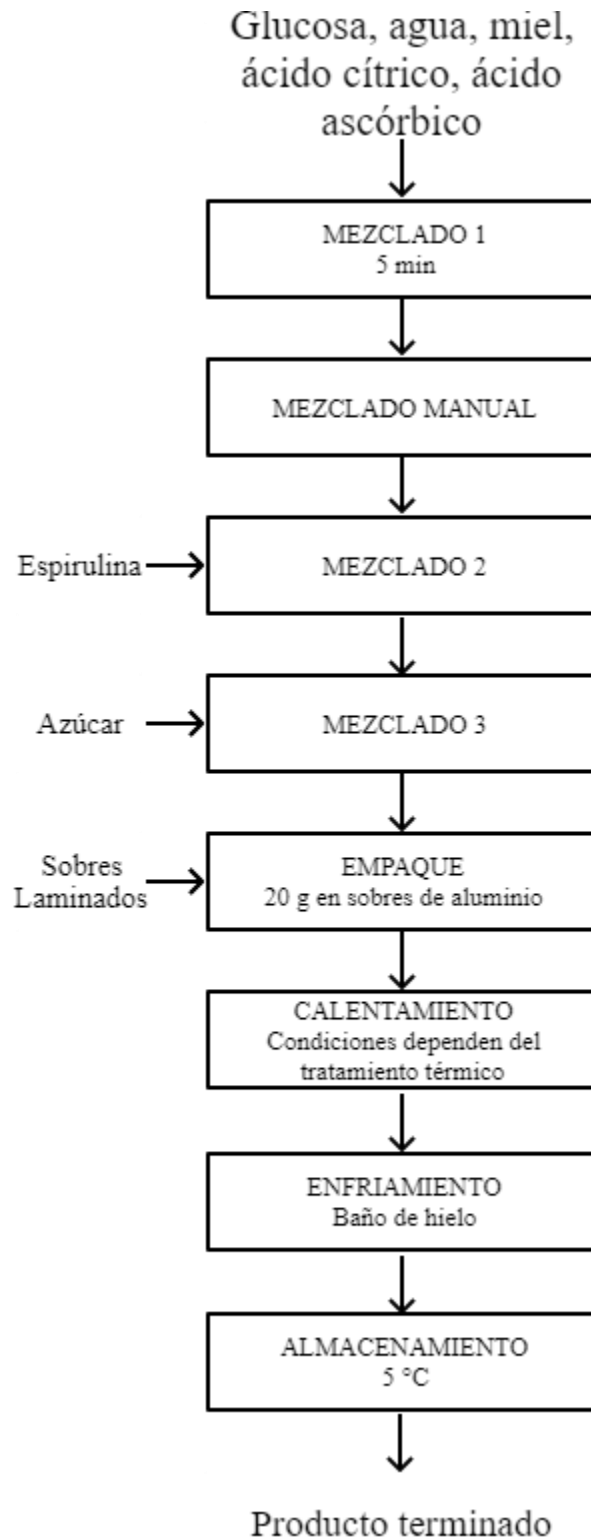


Figura 13. Diagrama de flujo del proceso seguido para la elaboración de los cuatro prototipos de jarabe dulce con espirulina.

5.3.2. Determinación del tratamiento térmico

De la misma forma como se determinó el tiempo total del tratamiento térmico de pasteurización, se determinó el tratamiento térmico de esterilización. Tomando en cuenta una temperatura de 95 °C, la misma que para el tratamiento de pasteurización, y las variables para el cálculo del valor D para una temperatura de 90 °C, se obtuvo un resultado de 14.09 s.

A partir de este resultado, se calculó de igual manera el tiempo que tardan en promedio los sobres con producto en llegar a una temperatura de 90 °C. Estos resultados se presentan en el Cuadro XVI.

Cuadro XVI. Tiempos en los que cada sobre tardó en llegar a una temperatura de 90 °C para definir el tratamiento térmico de esterilización.

Prueba	Tiempo para llegar a 90° C (s)	Tiempo total del tratamiento térmico (s)
1	87.79	102.79
2	62.70	77.70
3	62.88	77.88
4	75.92	90.92
5	73.11	88.11
6	42.72	58.62

De acuerdo con los resultados obtenidos de este proceso, se determinó que el producto tarda un máximo de 88 s en llegar a 90 °C en su interior. Se definió el tratamiento térmico en 105 s esto tomando los 88 s sumando 15 s del valor D calculado y dos segundos más como factor de seguridad. Tomando en cuenta lo anterior, el tratamiento corresponde a 1 min y 45 s, como factor de seguridad.

Cuadro XVII. Duración del tratamiento térmico para cada uno de los prototipos evaluados para determinar el efecto de la ‘Formulación’ y el ‘Tratamiento térmico’ sobre los parámetros de calidad de viscosidad, color y agrado general

Prototipo	pH	Tratamiento térmico	Código	Duración del tratamiento térmico
1	3.9	Pasteurización	P.3.9	39 s
2	3.9	Esterilización	E.3.9	105 s
3	2.9	Pasteurización	P.2.9	39 s
4	2.9	Esterilización	E.2.9	105 s

5.3.3. Análisis de los parámetros de calidad

5.3.3.1. Viscosidad

Los resultados del análisis estadístico realizado para el parámetro de viscosidad se muestran en el Cuadro XVIII, donde, se puede denotar al analizar los valores de p , que la interacción de los factores ‘Tratamiento Térmico’ y ‘Formulación’, no tiene un efecto significativo sobre la viscosidad final del producto. En contraste, al analizar los valores de p , para los factores de forma individual, estos son mucho menores que el valor de $\alpha = 0.05$, indicando que tanto el tratamiento térmico como el factor formulación, tienen un efecto significativo sobre la viscosidad del producto.

Cuadro XVIII. Análisis de suma de cuadrados de los factores ‘Tratamiento térmico’ y ‘formulación’, así como su respectiva interacción, para determinar si tienen un efecto significativo sobre la variable respuesta ‘Viscosidad’.

Factor	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr >F
Tratamiento	1.000	27.171	27.171	367.730	<0.0001*
Formulación inicial	1.000	19.323	19.323	261.520	<0.0001*

Factor	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr >F
Tratamiento* Formulación	1.000	0.068	0.068	0.917	0.366

*Denota los valores de p menores al valor de p crítico 0.05

Seguidamente en el Cuadro XIX, se muestran los resultados de las medias de la variable viscosidad para los productos de cada uno de los tratamientos. A estas medias se les aplicó la prueba de *Tukey*, y se determinó que se pueden agrupar en tres grupos distintos, denotados en el Cuadro XIX como los resultados acompañados de letras iguales. De esta manera, tomando en consideración la codificación expresada en el Cuadro XI, el prototipo con una mayor viscosidad corresponde al P.3.9, seguido por el P.2.9 y E.3.9, que no presentan diferencias significativas entre sí, y, por último, el producto E.2.9 es el menos viscoso de los cuatro analizados.

Cuadro XIX. Valores de viscosidad para cada uno de los prototipos analizados con distinta combinación de “Tratamiento térmico” y cambio de formulación con el fin de variar el valor de pH final en su formulación.

Tratamiento*	Viscosidad (Pa.s)
P.3.9.	6.082 ^a
P.2.9.	3.695 ^b
E.3.9.	3.223 ^b
E.2.9.	0.535 ^c

*Ver Cuadro XI.

*Letras distintas indican valores medios significativamente distintos entre sí.

La viscosidad en los alimentos varía en función de la cantidad de sólidos que se encuentren en la matriz, aumentando el valor de la viscosidad conforme aumenta la cantidad de sólidos (Adebowale & Sanni, 2013). En el caso de estos prototipos, los valores de agua agregada para el prototipo de pH 3.9 fueron de 23 % y para el prototipo de pH 2.9 fue de 22 %. Tomando como ejemplo la miel, se ha encontrado que un cambio de un 1 % en el contenido de humedad de este producto, puede generar un cambio en la viscosidad

comparado con el cambio propiciado por la variación de 3.5 °C (Kassim & Sarow, 2020). Aunque los productos no correspondían a miel exactamente, se presume que parte de las diferencias en viscosidad se deben a este comportamiento. Al ser la miel, un ingrediente de la formulación de los prototipos, y tener los dos productos una alta concentración de azúcares, el cambio entre viscosidades de la miel, puede ser análogo al comportamiento exhibido por los productos P.3.9 y E.3.9 en comparación con los P.2.9 y E.2.9, a una menor escala.

Por otra parte, el tipo de sólidos que componen los alimentos (carbohidratos, proteínas, lípidos o cenizas), también influyen la viscosidad de los alimentos. En el caso de los jarabes dulces, la cantidad de azúcares que contengan va a modificar el valor de viscosidad final. Además, tienen un efecto más significativo sobre la viscosidad, que otros componentes como la proteína, por estar esta última en menor cantidad. Por ejemplo, los jarabes altos en fructosa van a tener una viscosidad dependiente de la cantidad de fructosa y glucosa que se encuentre en el producto final (Montañez-Soto *et al.*, 2013). De esta manera, al observar las formulaciones iniciales, la cantidad y tipos de azúcares que se tienen en ambos prototipos determinan parte del comportamiento de estos, en cuanto a su viscosidad. En el caso de los jarabes de arce, la concentración de azúcares solubles medidos como °Brix, hace que aumente la viscosidad, conforme aumenta la concentración de dichos azúcares (Ngadi & Yu, 2004). El prototipo a pH 3.9, al tener una mayor cantidad de glucosa, 0.6% más que el prototipo a pH 2.9, el cual por su parte tiene un 0.25% más de miel, se puede considerar que puede ser más viscoso. Esta diferencia en porcentaje es lo suficientemente significativa como para presentar una diferencia en el factor formulación inicial.

Sumando a esto, el tipo de azúcar que se encuentra en el jarabe también influye la viscosidad del mismo. En términos generales, para condiciones con una misma velocidad de cizalla a una misma temperatura, la viscosidad de los jarabes con glucosa es más grande que la viscosidad de los jarabes con sacarosa, y estos más viscosos que los jarabes con fructosa (Montañez-Soto *et al.*, 2013). Tomando esto en cuenta, la sacarosa, la cual corresponde al azúcar de mayor concentración en ambos prototipos, tiene una mayor diferencia en las concentraciones al comparar las dos formulaciones iniciales, con un 2,65% más en el prototipo de pH 3.9, esto por sí solo ya genera una diferencia entre las viscosidades de los prototipos.

Tal y como se puede observar en la Figura 14, los prototipos P.3.9 y E.3.9 tienen mayores viscosidades si se comparan con los prototipos P.2.9 y E.2.9 respectivamente. Esto explicado por el efecto de la concentración de azúcares, descrito anteriormente. Asimismo, el tipo de azúcares presentes en los prototipos, también tienen un efecto apreciable en el comportamiento del gráfico.

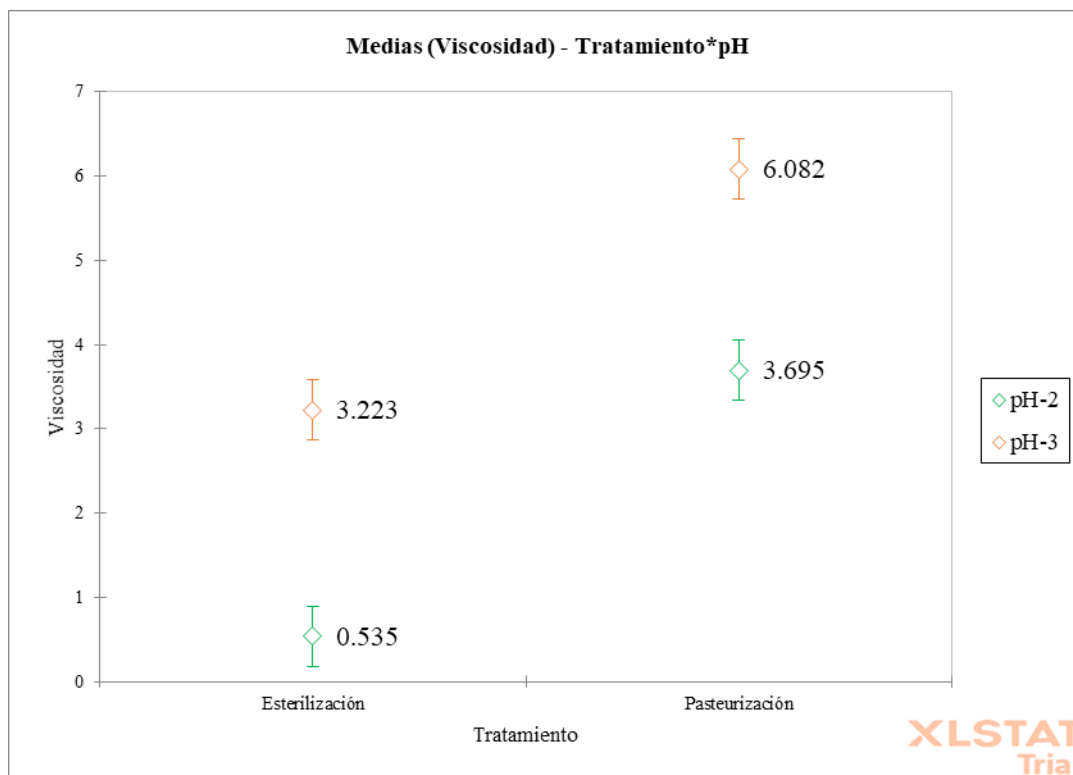


Figura 14. Medias de viscosidad para los 4 prototipos generados a partir de la combinación de dos valores de pH distintos y dos tratamientos térmicos distintos.

Además de la concentración de azúcares en el medio, las proteínas también juegan un papel importante en la variación de la viscosidad (Hong *et al.*, 2018). En productos como quesos, se puede observar un aumento de la viscosidad aparente del producto al tener un aumento de concentración de las proteínas en el producto, y una reducción subsecuente de la humedad del producto (Dimitreli & Thomareis, 2004). Por otro lado, Benoit *et al.*, (2013) agregan que la viscosidad no sólo aumenta con la concentración de proteína, sino que también al tener interacciones entre los sustituyentes de la proteína y otros componentes de la matriz, se puede tener un aumento de la viscosidad. Debido a esto, productos con una cierta cantidad de proteína en su formulación, pueden ver afectadas las propiedades reológicas de los

productos, modificando, entre otras cosas, su viscosidad. En el caso preciso de los prototipos, se encuentra una leve diferencia entre la cantidad de proteína que hay en cada producto, pues los prototipos P.3.9 y E.3.9 (ver Cuadro XI) cuentan con un 0.35% más de espirulina, el cual es el único ingrediente con un aporte proteico. Factores como la forma de las proteínas, la distribución de las cargas y asociaciones cinéticas, pueden tener un efecto significativo en la viscosidad final de un producto (Gonçalves *et al.*, 2013).

La espirulina, al tener una gran cantidad de proteínas en su composición, y al tener estas proteínas en algunas partes de su estructura dominios globulares (Dagnino-Leone *et al.*, 2022), tiene una influencia importante sobre la viscosidad del producto. Se estableció que la diferencia en la cantidad de proteínas no es relevante pues su diferencia entre ambas formulaciones no es tan amplia, pero sí lo es el efecto que tiene el pH en las proteínas. En valores de pH entre 3.0 y 4.0 la ficocianina presenta cambios de color asociados a la estabilidad de las proteínas, específicamente a la conformación de la proteína (Adjali *et al.*, 2022). Al comparar los prototipos P.3.9 y E.3.9, versus el P.2.9 y E.2.9 respectivamente, se puede observar la tendencia que se observó en la Figura 14, donde los prototipos con mayor valor de pH tienen una mayor viscosidad. Aunque ambos valores de pH afectan la estructura de la ficocianina, a un pH de 3.9 se tiene un producto más viscoso, por ende, menos afectado. Este comportamiento se puede deber, también, a la precipitación de proteínas de la espirulina (Wu *et al.*, 2016). Estos cambios se dan a valores menores de pH, pues los valores óptimos de pH son de 5.5-6.0 (Adjali *et al.*, 2022), cercanos a su punto isoeléctrico entre 4.6 y 5.2 (Sala *et al.*, 2014). De esta manera, la proteína presente en el prototipo va a tener una afectación significativa por los valores de pH del medio, pues en ambos casos se encuentran fuera de los valores óptimos de pH.

Por su parte, el tratamiento térmico recibido también es relevante. Al observar los resultados de viscosidad para los prototipos P.3.9 (ver Cuadro XI) y P.2.9, comparados con E.3.9 y E.2.9 respectivamente, se determina que hay un efecto del tratamiento térmico, donde los productos pasteurizados son más viscosos. Los tratamientos térmicos, en este caso, se variaron únicamente en el tiempo durante el cual se mantuvo expuesto el producto. En cuanto a esto, se ha determinado que, a temperaturas altas, la concentración de ficocianina disminuye más rápidamente conforme mayor sea la temperatura del medio (Chaiklahan *et al.*, 2012).

Midiendo la absorbancia como un indicador de la concentración de ficocianina se ha demostrado que, con un tratamiento térmico de 71 °C, se puede ver una disminución del 30% del pico máximo a los 60 s (Böker *et al.*, 2019). Por su parte, Wu, *et al.* (2016) señalan que a temperaturas superiores a 45 °C se pierde estabilidad de la ficocianina muy rápidamente. Dicho esto, hay un efecto importante del tiempo durante el cual se expusieron los prototipos al tratamiento térmico. Esto es atribuido a la disminución en la concentración de las proteínas, lo cual presenta un cambio en la estructura del medio haciéndolo más líquido. Además de esto, la sacarosa tiene un efecto protector sobre la degradación de la ficocianina a altas temperaturas (Faieta *et al.*, 2020). Por lo que, al tener un mayor contenido de sacarosa en la formulación con pH de 3.9, hay una mayor protección de la proteína, y por ende una mayor viscosidad de los productos a pH 3.9 después el tratamiento térmico. Se observa una diferencia significativa de 3.160 Pa.s entre los prototipos P.2.9 y E.2.9 y una diferencia de 2.859 Pa.s entre los prototipos P.3.9 y E.3.9.

Observando la Figura 15, se puede tener una idea del orden de viscosidades de los cuatro prototipos. El prototipo P.3.9 (ver Cuadro XI) es significativamente más viscoso que los demás. Esta es una característica deseable al tratarse de jarabes, pues la viscosidad puede ser un factor que inflencie la percepción de dulzura en un producto (Enriquez, 2018), haciendo que los consumidores busquen jarabes más viscosos esperando que sean más dulces. Los prototipos P.2.9 y E.3.9 son estadísticamente iguales, por lo que no se puede determinar cuál factor influye más sobre la viscosidad de los productos, si el cambio de pH o el tratamiento térmico. Lo que sí se puede obtener de esta Figura 15 es que los tratamientos de pasteurización generan los dos prototipos más viscosos. Asimismo, en comparación, a pH más bajo se tienen menores viscosidades para un mismo tratamiento térmico, de esta forma se puede observar el efecto del pH sobre las proteínas de la espirulina.

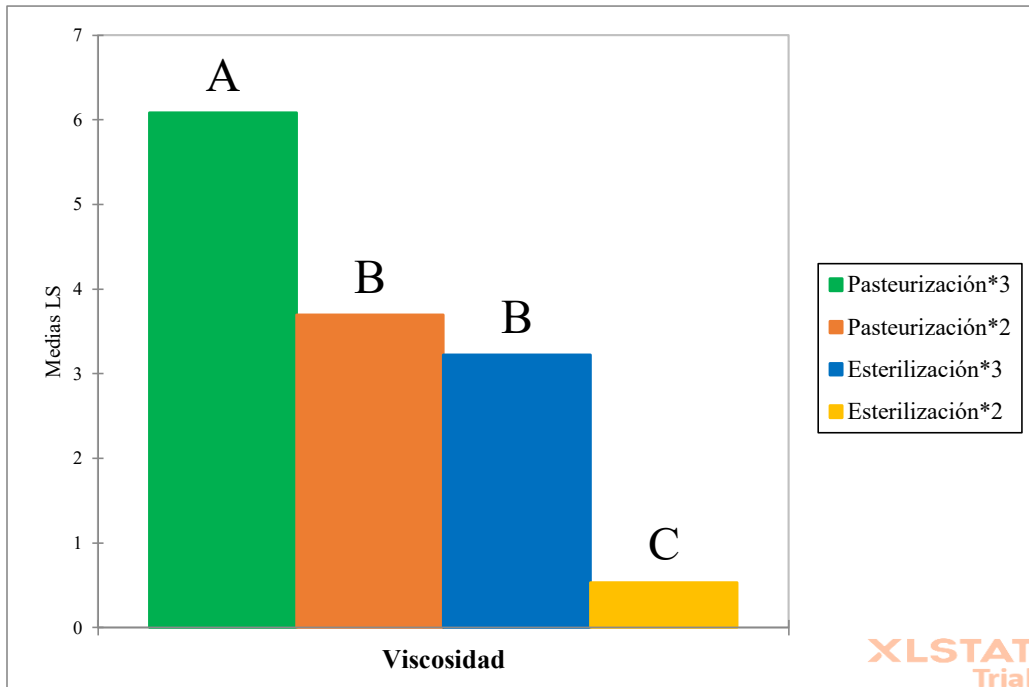


Figura 15. Resumen de las medias de la viscosidad medida como Pa.s para los cuatro prototipos generados a partir de la combinación de dos valores de pH distintos y dos tratamientos térmicos distintos.

5.3.3.2 Análisis de color

Para determinar y explicar el efecto que tienen la variación de la formulación para obtener prototipos con distintos valores de pH, y el efecto de los dos distintos tratamientos térmicos aplicados sobre el color, se separa en cada uno de los parámetros medidos por el colorímetro. Al tratarse el parámetro a^* de las coloraciones que van del rojo (+180) al verde (-180), se relaciona el valor del mismo con lo que suceda con la clorofila presente en el producto. Esto pues, la clorofila al ser el pigmento de coloración verdosa, se le atribuye un mayor efecto en el comportamiento de esta característica. Asimismo, el parámetro b^* , que va de la coloración amarilla (+180) a la coloración azul (-180), es relacionado con el comportamiento de la ficocianina. Por último, el parámetro L^* , que explica la luminosidad, no es atribuido a ningún pigmento en específico. Sino que, se relaciona a la totalidad de la composición del producto, y cómo interactúan los pigmentos y demás componentes.

5.3.3.2.1. Parámetro a*

Para el parámetro a* se obtuvo un valor de $p < 0.0001$ en el factor de la formulación, significando que esta tiene un efecto significativo en el color verdoso del producto. Además de esto, se determinó que el factor del tratamiento térmico y la interacción de ambos factores, tienen un efecto significativo sobre el valor del parámetro a*, teniendo valores de p iguales a 0.013 y 0.022 respectivamente. Al ser la interacción de ambos factores significativa, entonces se puede decir que el efecto de uno de los factores no es igual en todos los niveles del otro factor. A continuación, se puede observar el Cuadro XX con las medias de los valores de a* para cada uno de los prototipos.

Cuadro XX. Valores medios del parámetro de color a* para cada uno de los prototipos analizados realizados con una distinta combinación de tratamiento térmico y cambio de formulación con el fin de variar el valor de pH final en su formulación.

Tratamiento*	Medias LS(a*)
E.2.9	-0.817 ^a
P.2.9	-1.053 ^b
E.3.9	-1.230 ^{bc}
P.3.9	-1.243 ^c

*Ver Cuadro XI.

*Letras distintas indican valores medios significativamente distintos entre sí.

Cómo se puede observar en el Cuadro XX el producto con un mayor valor del parámetro a* es el E.2.9, significando así, que es el menos verde de los cuatro prototipos. Tomando en cuenta que entre más negativo sea el valor de a* se va a tener un producto más verde, entonces el prototipo con más verde es el P.3.9. Dicho de otra manera, el prototipo P.3.9 es el que tiene una menor afectación de la clorofila y por ende es el percibido como más verde.

Como parte de los estímulos ambientales que pueden modificar la estructura de la clorofila se menciona que el pH del medio puede alterar la molécula. Dependiendo del ambiente en el que se encuentre la molécula, ya sea ácido o alcalino, esta va a cambiar su

conformación, haciendo la molécula menos digerible debido a su degradación (Viera *et al.*, 2022). Hablando estrictamente del color, la clorofila, en un ámbito de pH entre 2-13, presenta tonalidades verdosas en todo momento. Sin embargo, en un ámbito entre 2-5, esta tiene un color verde olivo, o verde amarillento. Conforme aumenta el valor de pH, en el ámbito restante de 6 a 13, se mantiene un color estable, levemente más oscuro conforme aumenta el valor de pH (Wulandari *et al.*, 2020). Esto se le atribuye a la sustitución que sufre el ion de Mg^{2+} , por dos iones hidronio (H^+). Esta sustitución da como resultado una estructura llamada feofitina, la cual tiene una coloración grisácea para la clorofila A, y una coloración verdosa para la clorofila B (Indrastri *et al.*, 2018).

De acuerdo con esto, los prototipos con un mayor valor de pH tienen una menor degradación de la clorofila, que como se puede notar es aún más significativa conforme se disminuye el valor de pH. Los prototipos con una formulación cuyo pH es de 3.9, tienen en promedio un valor de -1.237 , mientras que los que tienen un pH de 2.9 tienen un valor promedio de -0.935 . Tomando esto en cuenta, y la prueba de *Tukey*, se puede decir que la clorofila se ve muy afectada por un cambio de pH, que, a pesar de ser ambos valores por debajo del óptimo para la clorofila, es significativo el cambio del valor de pH en una magnitud de 1.0 que se da entre ambos prototipos. Esto mismo se observa en la Figura 16, donde las barras correspondientes a los prototipos con una formulación cuyo valor de pH es de 3.9, están más abajo en el gráfico que las barras correspondientes a la otra formulación, independientemente del tratamiento térmico que hayan sufrido cada uno de los prototipos.

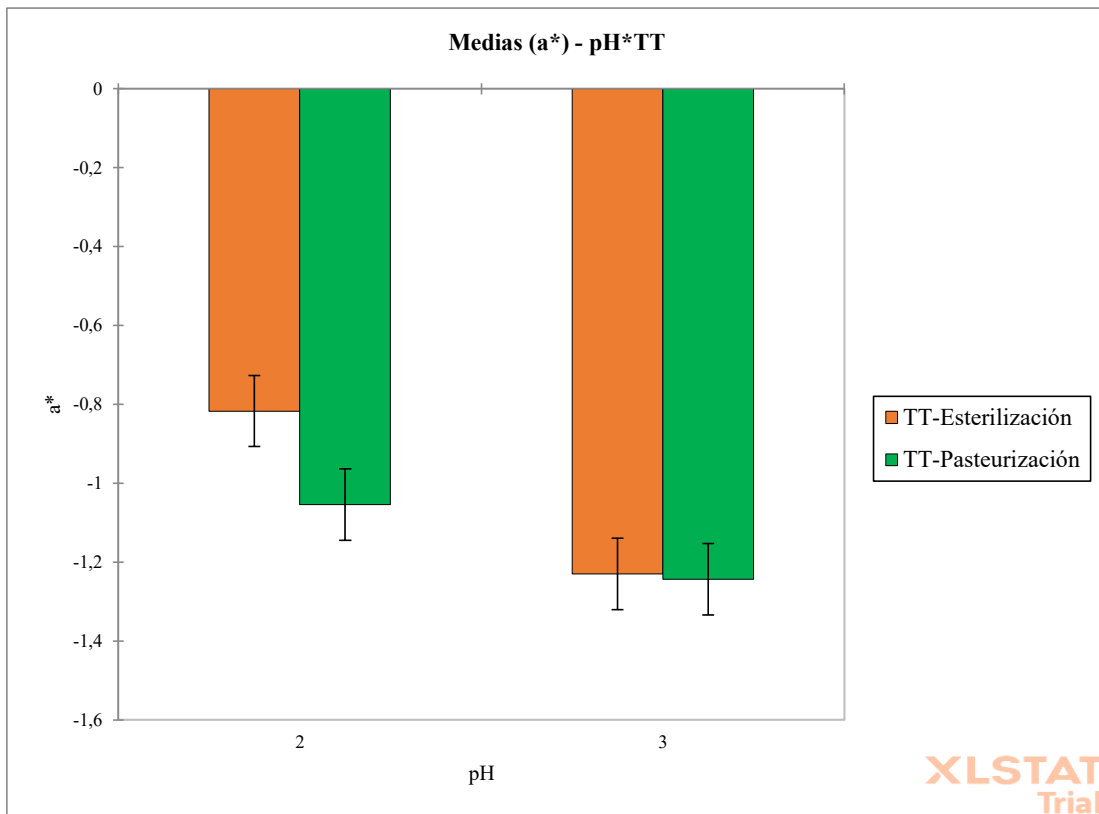


Figura 16. Comparación de los valores medios para el parámetro a^* medidos con un colorímetro a cuatro distintos prototipos de jarabe dulce con espirulina, para determinar el efecto de la formulación a distintos pH, y el tratamiento térmico sobre el color del producto.

Al observar de manera detallada el gráfico de la Figura 16, se observa para ambos niveles de pH, que la clorofila sufre afectaciones mayores cuando se somete al tratamiento térmico de esterilización. En ambos casos se observan valores medios ligeramente menores del parámetro a^* para el tratamiento de pasteurización, sin embargo, solamente para el prototipo de pH 2.9 este efecto resulta significativo. Si bien es cierto, se determinó que este efecto no es significativo, el valor p calculado (0.013) es muy cercano al valor p crítico (0.05), lo que quiere decir que se puede percibir cierto efecto, mas no se puede asegurar con un 95 % de confianza que este sea significativo. De forma gráfica, se aprecia cómo en las columnas correspondientes a los prototipos con una formulación cuyo valor de pH es de 3.9, tienen una pequeña diferencia, siendo más negativo, y por ende más verde, el prototipo pasteurizado. Esta es una pequeña diferencia, pero no es relevante, lo cual es respaldado por la prueba de

Tukey efectuada, donde se denotan ambos prototipos con la misma letra (C), indicando así que son iguales. En contraste, tanto de forma gráfica como mediante la prueba de comparación de medias, se determina que, para los prototipos con un valor de pH de 2.9, sí hay diferencia significativa en el valor del parámetro a^* , dependiendo del tratamiento térmico aplicado.

Es importante analizar el efecto que puede llegar a tener el tratamiento térmico sobre la estabilidad de la clorofila, y por ende sobre el color del producto final. Los tratamientos térmicos que pueda sufrir un tejido vegetal con un contenido de clorofila van a afectar la integridad de esta última. El tratamiento térmico que sufre un alimento va a desnaturalizar el complejo proteico que acompaña a la clorofila, generando los cambios en su conformación, y un cambio en el color que refleja (Indrasti *et al.*, 2018). La degradación de la clorofila, mediada por la temperatura, se va a ver acelerada conforme aumenta la temperatura del medio donde se encuentra, por esta razón entre mayor sea el tiempo y la temperatura del tratamiento térmico, se va a tener una mayor degradación de este pigmento. Si se comparan diferentes temperaturas, durante el almacenamiento, entre menor sea esta, se mantiene de mejor manera el pigmento en las estructuras vegetales (Manolopoulou & Varzakas, 2016). Debido a esto, durante los tratamientos térmicos que pueden tener algunas estructuras vegetales que contengan clorofila, se va a tener una degradación de su color. De igual manera que con el ácido, la aplicación de calor en el medio va a cambiar la conformación de la clorofila a feofitina, cambiando así también su color (Östbring *et al.*, 2020), siendo esta última de coloraciones verde olivo.

Tomando en consideración lo discutido, se puede decir entonces que dependiendo del valor de pH que se tenga, se va a poder observar una mayor o menor afectación de la clorofila debida al tratamiento térmico. Al tener valores más bajos de pH, por el debilitamiento y cambio estructural sufrido por la molécula, se puede tener un efecto más fuerte debido a las condiciones del tratamiento térmico. Esto indica que la clorofila se retiene en menor cantidad, al someterse a un tratamiento térmico, entre más ácido sea la matriz donde se encuentra (Zheng *et al.*, 2014; Efimovna, 2016). Es por esto que se da una mayor diferencia en el valor del parámetro a^* , en el prototipo con menor valor de pH, comparando los dos tratamientos térmicos. Si se tienen valores de pH más altos, entonces los tratamientos

térmicos aplicados no tienen significancia alguna sobre el parámetro a^* del color. La clorofila tiene una mayor estabilidad en el prototipo con un valor de pH de 3.9, independientemente del tratamiento térmico recibido. Es por esto, que, en este caso, se prefiere el prototipo con mayor estabilidad de clorofila, y un tratamiento térmico de menor costo, el cual corresponde al prototipo P.3.9.

5.3.3.2.2 Parámetro b^*

El parámetro b^* , como se ha mencionado, está relacionado con las coloraciones azules y amarillas que posee la sustancia que se analizan. Los valores positivos, entre +180 a 0 dan una idea de qué tan amarilla es la muestra, mientras que valores negativos entre 0 y -180 corresponden a sustancias azuladas. Esto es relevante ya que al observar los datos que se presentan en el Cuadro XXI, se puede denotar que hay tres valores positivos y uno negativo. Esto indica que tres de los prototipos tienen coloraciones predominantemente amarillentas, y sólo uno de ellos tiene una coloración un poco más azulada. Para este análisis, se obtuvo un valor de $p < 0.0001$ para la interacción de ambos factores. Al ser este valor de p menor al p crítico de 0.05, se concluye que la interacción de los factores es significativa para explicar el comportamiento de los prototipos en la variable respuesta b^* . Al ser la interacción entre ambos factores significativa, entonces se afirma que el efecto de uno de los factores no es igual en todos los niveles del otro.

Cuadro XXI. Valores medios del parámetro de color b^* para cada uno de los prototipos analizados realizados con una distinta combinación de tratamiento térmico y cambio de formulación con el fin de variar el valor de pH final en su formulación.

Tratamiento*	Medias LS(b^*)
E.3.9	1.440 ^a
P.2.9	0.397 ^b
E.2.9	0.083 ^{bc}
P.3.9	-0.283 ^c

*Ver Cuadro XI.

*Letras distintas indican valores medios significativamente distintos entre sí.

Los valores presentados en el Cuadro XXI indican que el prototipo P.3.9 es el único que presenta tonalidades azuladas en su matriz, además de esto, los otros tres prototipos,

aunque presenten tonalidades predominantemente amarillentas de acuerdo con el análisis, son distintos entre sí. Al aplicar la prueba de comparación de medias (*Tukey*) se puede notar cómo los dos prototipos con un pH final de 2.9 tienen tonalidades similares, al ser señalados con la misma letra (b). Además de esto, el prototipo E.3.9, es el más amarillento, lo cual llama la atención, pues al compararse con el otro prototipo con un pH de 3.9, son ambos completamente opuestos y extremos en este set de muestras. Por último, de acuerdo con la prueba de diferencia de medias, con un 95% de confianza se puede mencionar que los prototipos E.2.9 y P.3.9 son iguales entre sí, lo que indicaría que el prototipo E.2.9 es igual de azulado que el P.3.9.

La tonalidad azulada que presenta la espirulina, como se estableció con anterioridad, es atribuida en su mayoría a la presencia y al estado de la ficocianina en la matriz alimenticia, en este caso. Es debido a esto que para comprender el comportamiento de los resultados observados se debe analizar cómo afectan los factores a la ficocianina. La ficocianina, como cualquier otra proteína, tiene una serie de condiciones ideales que determinan si su estabilidad se mantiene o no. La pérdida en la concentración de ficocianina es debida a la desnaturalización de la estructura proteica de la molécula, lo que hace que ya no sea funcional tanto en el tejido vegetal como en las funciones fisiológicas (Faieta *et al.*, 2020). En términos generales, parte de los factores típicos que pueden afectar la estabilidad de las proteínas, y que suelen intervenir en la formulación de un alimento nuevo se encuentra la temperatura y el tiempo a los que se diseña el tratamiento térmico. En diferentes estudios se ha determinado que estos dos factores tienen una influencia directa sobre la concentración, y la tasa de degradación de este compuesto.

En cuanto a las temperaturas de almacenamiento, se ha determinado que a lo largo del tiempo la concentración disminuye, a una mayor velocidad si se almacena a 40 °C, en comparación con temperaturas de 25 °C y 4 °C (Kannaujiya & Sinha, 2016). Por otro lado, en un ámbito entre 26 y 43 °C, se ha demostrado que la estabilidad de la ficocianina se mantiene, mientras que conforme se aumenta la temperatura más allá de este ámbito, más rápido se da la degradación, por ejemplo, a temperaturas de 50° a 80° donde se pierde una gran proporción de ficocianina en la matriz analizada (Chaiklahan *et al.*, 2012; Faieta, *et al.*, 2020). El tiempo que dure el tratamiento térmico también es relevante, pues conforme este

tiempo aumente, la cantidad de ficocianina en la espirulina se va a ver disminuida. Además, en tiempos prolongados de tratamiento térmico, la velocidad de degradación de ficocianina disminuye conforme aumenta el tiempo, siendo la fase inicial del calentamiento la que tiene una mayor repercusión en la cantidad de ficocianina (Faieta *et al.*, 2020). Por esto, a pesar de que se diseñe una pasteurización, en lugar de una esterilización para el tratamiento térmico, es el calentamiento inicial el que presenta la mayor incidencia sobre la concentración final de ficocianina. Esto se puede observar en el comportamiento que tuvieron las muestras P.2.9 y E.2.9. A pesar de que la muestra pasteurizada estuvo menos tiempo expuesta al calor, esta se vio más afectada en su concentración de ficocianina, basándose en el valor del parámetro b^* , lo que hace ver que su mayor degradación fuera durante la etapa inicial del calentamiento, y el tiempo extra que pasó la muestra esterilizada expuesta al calor no fuera estadísticamente relevante.

La clorofila es un componente que influencia tanto el parámetro a^* como el parámetro b^* de color. En su forma no alterada, genera efectos sobre el parámetro b^* que corresponde a las coloraciones verdosas. Pero, cuando sufre deterioro y genera tonalidades pardas y amarillentas, afecta la sección positiva de la escala correspondiente al parámetro b^* . La clorofila tipo a puede verse mucho más afectada por el estrés oxidativo que la clorofila tipo b. Este estrés oxidativo es el que genera tonalidades verde-amarillentas de este pigmento (Kasajima, 2019). Además de esto, aunque no es predominante la clorofila b tiene tonalidades, en su mayoría verdes amarillentas (Ngamwonglumlert *et al.*, 2015) por lo que la misma también puede presentarse en la ficocianina, afectando el valor del parámetro b^* reportado. Si se toma esto en consideración, el valor reportado para el prototipo E.3.9, se debe a un efecto conjunto de la degradación de la ficocianina, degradación de la clorofila que genera tonalidades ligeramente amarillentas, las cuales fueron percibidas por el equipo.

Por su parte, la formulación de cada uno de los prototipos también tuvo un efecto significativo en el resultado final del valor de b^* . De acuerdo a lo apreciado en el gráfico de la Figura 17, la formulación tiene efectos distintos dependiendo de cuál de los dos tratamientos térmicos se trate, mostrándose de esta forma, también el efecto significativo de la interacción entre ambos factores.

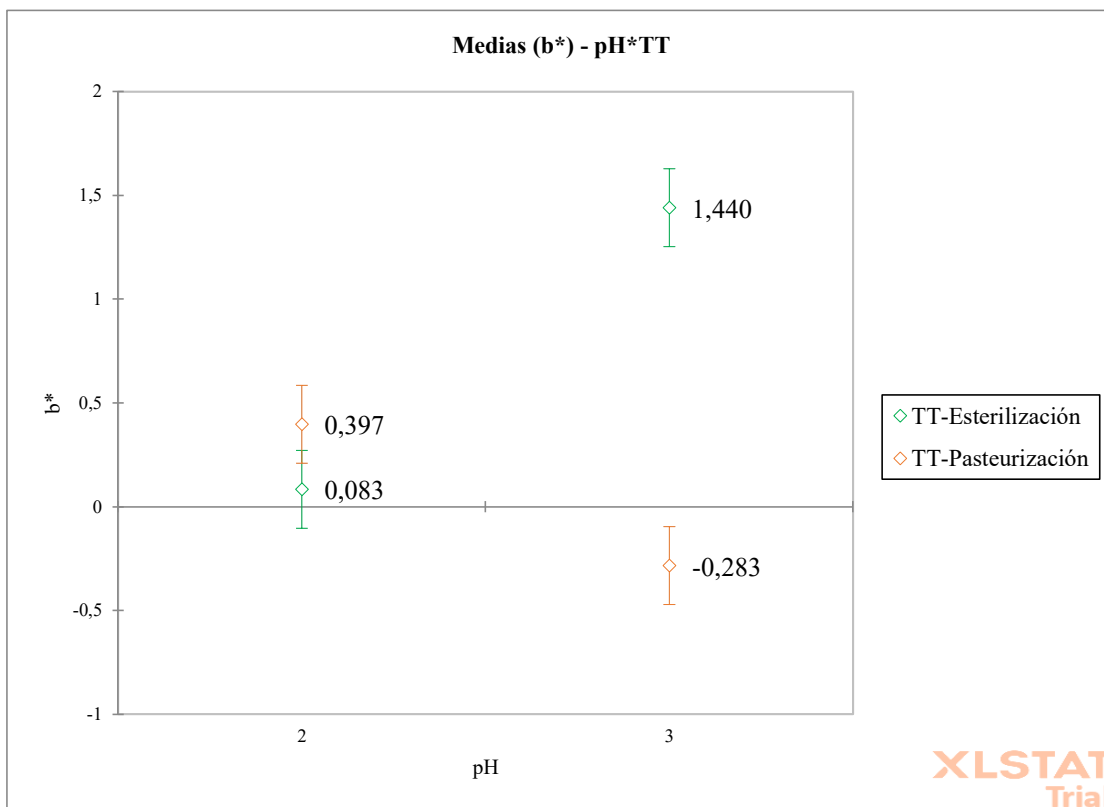


Figura 17. Comparación de los valores medios para el parámetro b^* medidos con un colorímetro a cuatro distintos prototipos de jarabe dulce con espirulina, para determinar el efecto de la formulación a distintos pH, y el tratamiento térmico sobre el color del producto.

Al observar las dos formulaciones distintas utilizadas, el cambio más significativo es el valor de pH, es por esto que se debe analizar el efecto que tiene el pH sobre la estabilidad y funcionalidad de la molécula de ficocianina. La espirulina, al ser un alga, durante su crecimiento y cultivo se encuentra a valores de pH cercanos a 6.0 y 9.0. Dentro de este ámbito se menciona que el valor ideal para la mayor producción de ficobiliproteínas, dentro de ellas la ficocianina, es 8.0 (Begum *et al.*, 2015). Es por esta razón, que la espirulina a un valor de pH de 6.0 presenta una menor tasa de disminución en la concentración, que si se compara con un valor de 5.0 (Chaiklahan *et al.*, 2012). Observando esta tendencia, conforme disminuye el valor de pH, se va a observar una menor concentración de ficocianina en el producto. En un medio ácido (<4.5) la estructura de la ficocianina se empieza a desdoblarse, resultando en la precipitación de la misma (Wu *et al.*, 2016). Comparando la absorbancia de

soluciones con ficocianina a distintos valores de pH, entre menor sea el valor se va a presentar una menor absorbancia, lo que se correlaciona con una menor concentración de ficocianina en el medio de acuerdo con la ley de Beer (Wu *et al.*, 2016). Este comportamiento se cumple al comparar las muestras P.3.9 y P.2.9. Viendo el valor de b^* como un indicador directo de la concentración de ficocianina se puede mencionar que se presenta en menor cantidad en el prototipo con pH de 2.9 para el tratamiento de pasteurización. Ambos prototipos son distintos entre sí para este parámetro, de acuerdo con lo indicado en la prueba de *Tukey*, por lo que se puede mencionar que, en este caso, efectivamente tener un mayor valor de pH, le da mayor estabilidad a la muestra pasteurizada.

En contraste, las muestras esterilizadas tienen un comportamiento totalmente opuesto. La muestra con un mayor valor de pH, 3.9, presenta una coloración más amarillenta, traducido a su vez como una menor cantidad de ficocianina tipo C, que es la que da la coloración azulada a la espirulina. Observando ahora la composición específica de las formulaciones, se tiene una mayor concentración de ácido cítrico en la formulación con un valor de pH de 2.9. Se ha determinado que el ácido cítrico es una muy buena alternativa para utilizar como preservante en soluciones con espirulina en concentraciones que rondan desde 2.5% hasta 4 g/L. (Chaiklahan *et al.*, 2012; Kannaujiya *et al.*, 2016; Mishra *et al.*, 2010). El ácido cítrico funciona como un quelante, que disminuye el pH y a su vez aumenta la estabilidad de la C-ficocianina (Pan-Utai *et al.*, 2018; Mishra *et al.*, 2010). El ácido cítrico, al formar el ion citrato, tiende a alterar la estructura del agua, al realizar esto disminuye la solubilidad de las proteínas y por ende aumenta su estabilidad al encontrarse en matrices acuosas, este es un efecto que se ha visto en proteínas del suero lácteo y la C-ficocianina (Mishra *et al.*, 2010). Tomando esto en cuenta, al tener una mayor concentración de ácido cítrico, se puede mencionar que el prototipo E.2.9 es más estable que el E.3.9.

Este efecto del ácido cítrico no es observado de la misma forma con los tratamientos de pasteurización. Se mencionó anteriormente, que el tiempo durante el cual se somete un producto a un tratamiento térmico, también tiene un efecto sobre la estabilidad de la ficocianina (Faieta *et al.*, 2020). Al ser la pasteurización de menor tiempo, se altera menos la cantidad de ficocianina en el medio, por lo que el efecto del ácido cítrico no es apreciable a tiempos tan bajos de tratamiento térmico. En este caso, predomina la estabilidad dada por el

pH de la solución y efecto protector de demás sustancias presentes como sacarosa y la glucosa (Martelli *et al.*, 2014; Rahman *et al.*, 2021). Estas son sustancias que se encuentran en mayor porcentaje en el prototipo con un pH de 3.9, por lo que, durante la pasteurización, la ficocianina se ve más protegida, en comparación con el prototipo a pH de 2.9, con menor cantidad de estos azúcares. Dependiendo del tiempo que tarde el tratamiento térmico, se va a tener distintas sustancias que intervienen en la protección de la C ficocianina.

5.3.3.2.3. Parámetro L*

El último parámetro relacionado con el color de los prototipos elaborados es la luminosidad de estos; entre mayor sea el valor final, se va a tener una mayor luminosidad. Al realizar el análisis de varianza para esta variable respuesta, se determina que los dos factores ‘tratamiento térmico’ y ‘diferencia de formulación’, así como su interacción, tienen un efecto significativo sobre la variable respuesta. Los valores de *p* fueron de 0.011; $p < 0.0001$ y 0.000 respectivamente. La interacción de ambos factores, al ser significativa, indica que el efecto de uno de los factores no es igual para todos los niveles del otro factor. De acuerdo con los resultados presentados en el Cuadro XXII, se pueden agrupar las cuatro muestras en tres grupos bien delimitados. En primer lugar, el más claro de los prototipos es el E.3.9, seguido por el segundo grupo donde se encuentra únicamente el prototipo P.3.9, y, por último, el grupo con los dos prototipos P.2.9 y E.2.9 que son igual de oscuros, de acuerdo con la prueba de *Tukey* aplicada.

Cuadro XXII. Valores medios del parámetro de color L* para cada uno de los prototipos analizados realizados con una distinta combinación de tratamiento térmico y cambio de formulación con el fin de variar el valor de pH final en su formulación.

Tratamiento*	Medias LS(L*)
E.3.9	2.567 ^a
P.3.9	2.057 ^b
P.2.9	1.537 ^c
E.2.9	1.390 ^c

*Ver Cuadro XI.

*Letras distintas indican valores medios significativamente distintos entre sí.

La luminosidad en este caso se ve relacionada con el comportamiento en conjunto de los pigmentos en las matrices y los demás ingredientes presentes, al verse en condiciones distintas como el cambio de temperatura durante los tratamientos térmicos. A manera general los alimentos tienen un proceso de pérdida de luminosidad al encontrarse en un proceso de calentamiento. Se ha observado en pastas, que independientemente de su formulación y proporción, siempre se tiene un producto crudo con mayor luminosidad que su contraparte cocida (Arribas *et al.*, 2020). Estos cambios son debidos a la afectación de los pigmentos, reacciones químicas como la de Maillard, reacciones intervenidas por enzimas entre otras. En el caso de alimentos ricos en azúcar, como lo son los jarabes de caña de azúcar, tienen un cambio en la luminosidad debida a la precipitación de compuestos no azucarados (Magri *et al.*, 2019). Estos compuestos no azucarados comprenden las proteínas, pigmentos, ácidos grasos, ceras, minerales, entre otros. Para el caso de los prototipos elaborados, destaca la cantidad de proteína, y cómo esta se pudo ver afectada durante los tratamientos térmicos y distintas formulaciones para generar productos con distintas luminosidades.

Empezando la comparación de los dos prototipos con un valor de pH de 2, se puede notar cómo ambos tienen los valores de luminosidad más bajos, indicando que los mismos presentan una menor cantidad de ficocianina, lo cual ya se estableció a su vez al analizar el valor b^* . Estos dos prototipos, además del valor de pH que tiene cada formulación, se diferencian también por la cantidad de azúcares en su formulación. En sí la ficocianina tiene su rango óptimo para trabajarla entre un pH de 5.5 a 6 y temperaturas de 45 °C, sin embargo, al agregarse preservantes como mono y disacáridos se mejora la estabilidad (Adjali *et al.*, 2022). El uso de miel, con extractos puros de ficocianina ha aumentado la estabilidad de la misma, al punto de aguantar tratamientos térmicos a temperaturas de 90 °C e inclusive 80 °C durante 30 min (Martelli *et al.*, 2014). La presencia de sacarosa y glucosa también ha sido reportada como ventajosa para la cantidad de ficocianina del medio (Faieta *et al.*, 2020; Martelli *et al.*, 2014). La sacarosa, así como otros azúcares pequeños y polioles, se reconocen como co-solutos, lo que hacen que tengan un efecto termo protector de la ficocianina, por las interacciones que estos generan con la proteína (Faieta *et al.*, 2020). Se ha establecido además que el efecto protector de los azúcares en las proteínas no depende tanto del tipo de azúcares que estén, si no de la cantidad que haya presente en el medio (Martelli *et al.*, 2014). Al analizar esto, con los datos obtenidos, se puede concluir que al tener una mayor cantidad de

azúcares en los prototipos con un valor de pH 3.9, independientemente del tratamiento térmico que reciba el producto, se va a tener una mayor luminosidad, lo que se observa claramente en la Figura 18. Esto por relacionar la luminosidad con la precipitación de proteínas, indicando así que los prototipos a un pH de 2.9, tiene mayor cantidad de ficocianina precipitada.

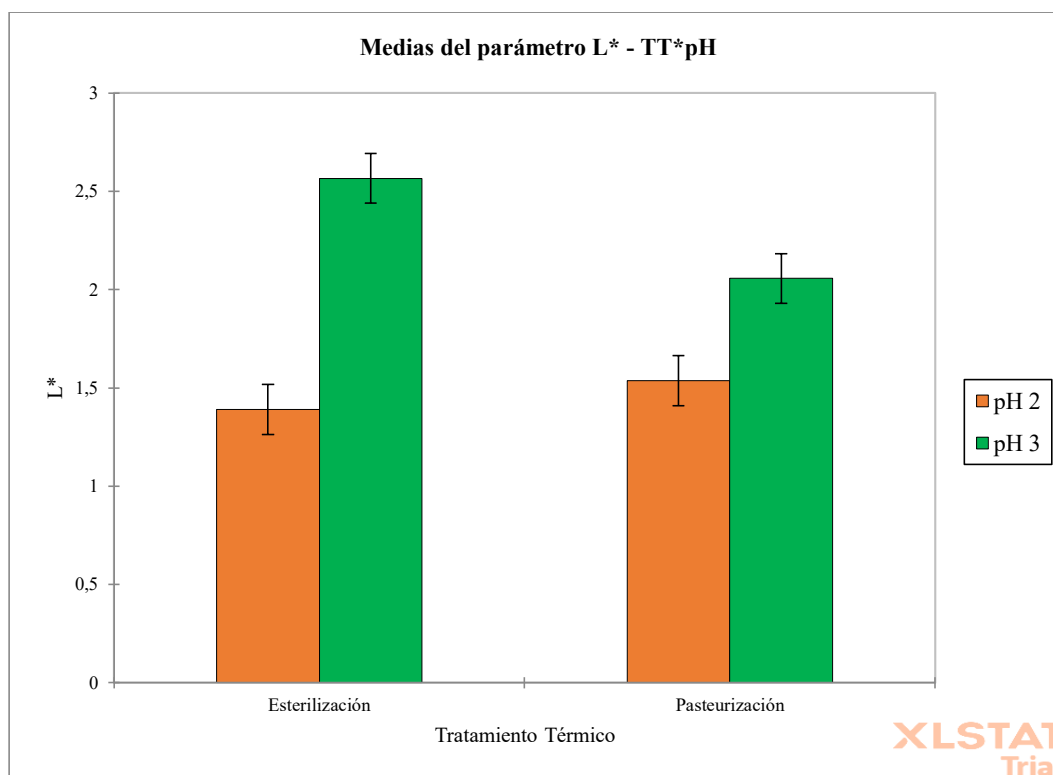


Figura 18. Comparación de los valores medios para el parámetro L* medidos con un colorímetro a cuatro distintos prototipos de jarabe dulce con espirulina, para determinar el efecto de la formulación a distintos pH, y el tratamiento térmico sobre el color del producto.

Al observar el gráfico se puede determinar que al comparar los dos prototipos con una formulación de pH a 3.9, se encuentra que la esterilización presenta valores más altos en luminosidad que el prototipo pasteurizado. Aunque se ha relacionado la luminosidad con la precipitación de las proteínas, en este caso ficocianina, este no es el caso. Se debe comprender el color de los prototipos como una mezcla de los tres valores L*, a* y b*, y aunque se intente explicar de manera individual, estos se ven afectados por los demás valores. Es por esto que, el prototipo P.3.9, al ser más verde y más azul, presenta una luminosidad menor que el

prototipo esterilizado. En contraste, este prototipo E.3.9, es menos verde y más amarillento, lo cual hace que se perciba como más luminoso que su contraparte. La precipitación de proteínas no es lo que domina el comportamiento de estos dos prototipos, ya que se estableció al analizar el valor b^* que para tener un valor menor de este (es decir un valor azulado), el prototipo P.3.9 tiene una mayor cantidad de ficocianina en su matriz, después de los tratamientos térmicos.

Como se mencionó, los tres valores de análisis de color determinados por colorímetro son complementarios entre sí, ayudan a dar una idea del comportamiento y degradación de los pigmentos. Sin embargo, no se pueden ver como una medida absoluta y directa que la concentración de estos pigmentos, sino que dan una idea aproximada de cómo estos se comportan. Dicho esto, al analizar la Figura 19, se puede denotar cómo el tratamiento de pasteurización se confirma como el más noble para los tres parámetros medidos. El tratamiento térmico es crucial para los pigmentos que se encuentran en la matriz. Es la pasteurización el tratamiento térmico que genera los productos más oscuros, más verdes y más azules de los dos tratamientos. Sugiriendo que es el que menos afecta la integridad de los pigmentos presentes en el producto. Este factor sólo no fue significativo para la variable respuesta a^* , pero con un valor de p de 0.11, y de acuerdo con la tendencia mostrada en el gráfico, se puede asegurar que la pasteurización afecta menos los pigmentos encontrados en la matriz.

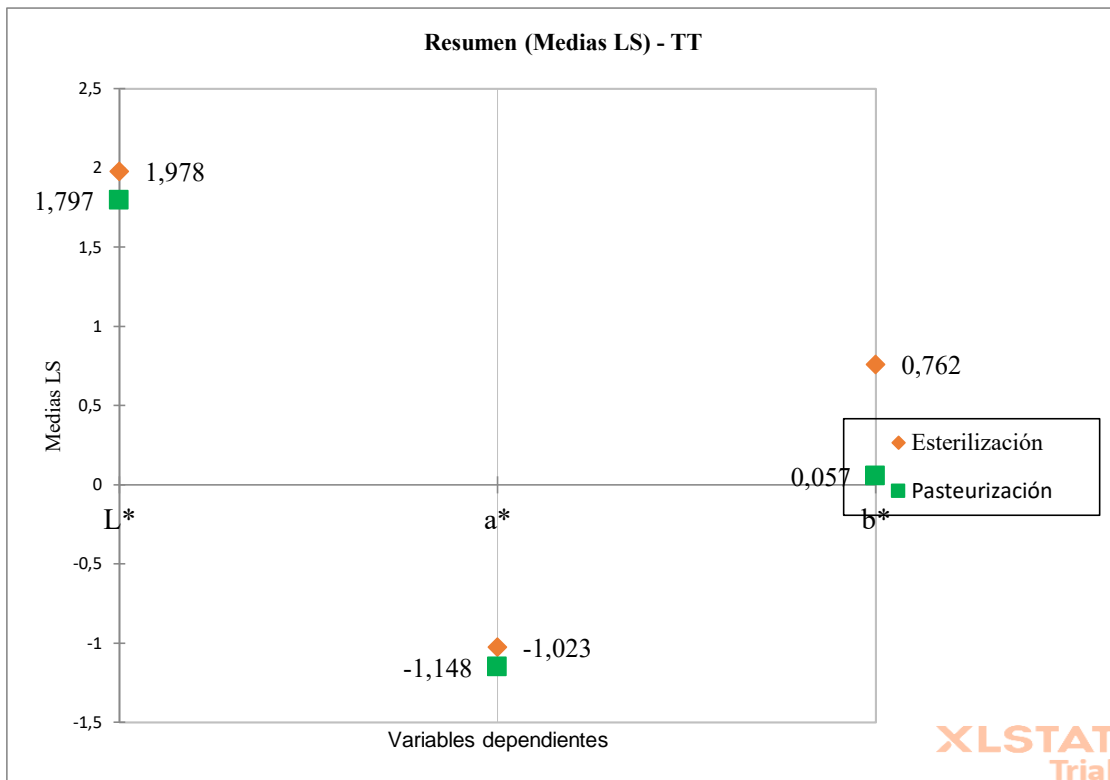


Figura 19. Resumen de la comparación de los valores medios para el parámetro L*, a* y b* medidos con un colorímetro a cuatro distintos prototipos de jarabe dulce con espirulina, para determinar el efecto del tratamiento térmico sobre el color del producto.

Por su parte, la formulación empleada también tiene un efecto significativo sobre la estabilidad de los pigmentos en la matriz, ya que para las tres variables respuesta el análisis de varianza determinó que la formulación tiene un efecto significativo. Sin embargo, este efecto no puede ser atribuido únicamente al valor de pH de cada una de las formulaciones. Las interacciones generadas con los azúcares y ácidos de las matrices tienen un efecto protector claro sobre la ficocianina y la clorofila. A pesar de esto, no se puede determinar con claridad cuál es la tendencia que este efecto protector sigue, por lo que no se puede asegurar en cuáles casos funciona de mejor manera. Es necesaria una mayor investigación para poder determinar el verdadero efecto de cada uno de los ingredientes de los prototipos, y generar una formulación óptima, con el mayor efecto protector sobre los pigmentos de la matriz.

5.3.3.3. Análisis sensorial

Al analizar los resultados de la prueba de análisis sensorial realizada, se observa que no hay un efecto significativo del pH, los tratamientos térmicos, ni de la interacción de ambos factores sobre el agrado general. Tal y como se puede observar en el análisis de la suma de cuadrados en el Cuadro XXIII.

Cuadro XXIII. Análisis de suma de cuadrados de los factores 'Tratamiento térmico' y 'pH', así como su respectiva interacción, para determinar si tienen un efecto significativo sobre la variable respuesta agrado general, para un n=104.

Factor	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F	Pr >F
Tratamiento	1.000	4.123	4.123	0.483	0.488
Formulación inicial	1.000	1.663	1.663	0.195	0.659
Tratamiento*Formulación	1.000	0.141	0.141	0.017	0.898

Dado que no existen diferencias significativas, no se realiza el análisis de comparación de medias, pues los cuatro tratamientos tienen una misma categoría de agrado general. Sin embargo, en el Cuadro XXIV se denotan los valores medios de agrado general para cada uno de los tratamientos, con el fin de establecer la tendencia seguida por los participantes del panel sensorial.

Cuadro XXIV. Valores medios de agrado general obtenidos a partir de un análisis sensorial (n=104) de los cuatro prototipos generados a partir de la combinación de dos valores de pH distintos y dos tratamientos térmicos distintos, utilizando una escala hedónica híbrida de 10 puntos.

Tratamiento*	Medias de agrado general
P.3.9	4.812 ^a
P.2.9	4.682 ^a
E.3.9	4.649 ^a
E.2.9	4.486 ^a

* Ver Cuadro XI

Típicamente para el análisis sensorial de jarabes, se emplean características sensoriales como: color, olor, sabor, textura, apariencia y dulzor (Agudelo, 2018), por lo que son las características que comúnmente emplean los consumidores, al juzgar productos de esta naturaleza, de una manera consciente o no. De acuerdo con los que se observa en el Cuadro XXIV, el prototipo que tiene una mayor calificación para agrado general aunque no significativa es el P.3.9, con 4.81, este prototipo, como se ha establecido, sufrió un menor daño por el tratamiento térmico recibido durante el proceso. Las características sensoriales típicas de un jarabe de azúcar es un producto viscoso, de apariencia líquida y con un sabor dulce (Vincentini-Polette *et al.*, 2019). Dicho esto, es esperado por parte de los consumidores que el jarabe al probarlo sea viscoso y dulce, pues son dos de las características principales esperadas de estos productos. El prototipo P.3.9, resultó ser el más viscoso de los cuatro, cumpliendo así uno de los criterios esperados para estos productos. La viscosidad de los alimentos tiende a cambiar la percepción de sabor y aroma por parte de los consumidores (Spence & Piqueras, 2016), por lo que en este caso se puede decir que ayuda a que el prototipo P.3.9 sea el más gustado por los consumidores. Además de esto, este prototipo es el único que tiene un valor negativo en el indicador b^* de color, indicando que es el único con tonalidades azules y menos pardas, de los cuatro prototipos. Asimismo, es el prototipo con el menor valor medio del indicador a^* de color, indicando que es el prototipo más verde de los cuatro. Esto puede beneficiar el valor de agrado general de este prototipo.

Por su parte, los demás prototipos tienen valores muy similares de aceptación general. Esto puede ser debido a una limitación de la escala. Se ha reportado que algunos panelistas al utilizar la escala concentran sus evaluaciones en un punto de la escala, ya sea calificando alto, medio o bajo, los productos que se evalúan (Villanueva, 2005). En el caso de este estudio, al trabajarse con un producto distinto a la versión de espirulina que se encuentra en el mercado, por ser la versión en el mercado costarricense productos en forma de polvo o pastillas, y el producto del estudio ser un jarabe, este es muy diferente a lo que pueden reconocer el grupo de participantes familiarizados y no familiarizados. Es por esto que al enfrentarse a un estímulo que no pueden reconocer fácilmente, es posible que una parte de los participantes calificara los productos en la zona media, cerca de la etiqueta “ni me gusta ni me disgusta”.

Teniendo lo anterior en consideración, los otros tres productos se calificaron siguiendo el mismo orden, de mayor a menor valor de agrado general, que el valor de la viscosidad. De esta manera el segundo prototipo más gustado es P.2.9, con un valor de 4.72, después el prototipo E.3.9 con un valor de agrado general de 4.64 y el menos gustado de los cuatro es el prototipo E.2.9 con 4.49. Se estableció la importancia de la viscosidad para una mayor aceptación del prototipo P.3.9, lo mismo que cumplen los otros tres prototipos. Al tener el mismo orden de mayor a menor valor de agrado general, que el valor de la viscosidad, se puede ver cómo este atributo afecta de manera positiva el valor de agrado general. La estimulación de receptores orales-somato sensoriales puede influir en el proceso que interviene al juzgar un alimento, la experiencia denominada “sensación en boca” es la que relaciona la viscosidad con la aceptación y percepción de otros estímulos en alimentos, aumentando o disminuyendo la intensidad de estas características, lo que interviene de manera directa en los valores de agrado general (Spence & Piqueras, 2016). Aunque sí se puede distinguir una coincidencia entre los órdenes de los prototipos después de analizar viscosidad y agrado general, no se puede hablar de una influencia significativa de la viscosidad sobre el agrado general de los cuatro prototipos.

Por último, en la Figura 20, se puede distinguir que, para ambos valores de pH, los valores de agrado general son mayores para el tratamiento de pasteurización. Se ha establecido en otros apartados que este tratamiento térmico de pasteurización es el que menos daña la integridad del alimento. Las propiedades de sensación táctil son perceptibles como partículas geométricas (Meilgaard *et al.*, 2016), estas no se reducen únicamente a las percibidas por la mano, la “sensación en boca” puede intervenir también en la percepción de partículas en alimentos. En el caso de los alimentos líquidos se busca la viscosidad de los mismos, mientras que para los sólidos sí se analiza la textura (Enriquez, 2018), es por esto que en alimentos líquidos no se espera obtener una textura al probarlos. Por los tratamientos térmicos recibidos, se obtuvo un leve precipitado de compuestos de los prototipos esterilizados, lo que hizo a su vez, que al probarlos se percibieran unas partículas granulosas en estos prototipos en específico. Es posible que estas partículas percibidas por los consumidores sean las responsables de que se tengan menores valores de agrado general para los prototipos esterilizados, en cada uno de los dos valores de pH distintos. De igual manera, se percibieron partículas en el prototipo P.2.9, sin embargo, estas fueron percibidas en menor

cantidad. Esto de igual manera pudo influir en el valor de agrado general atribuido a cada uno de los prototipos.

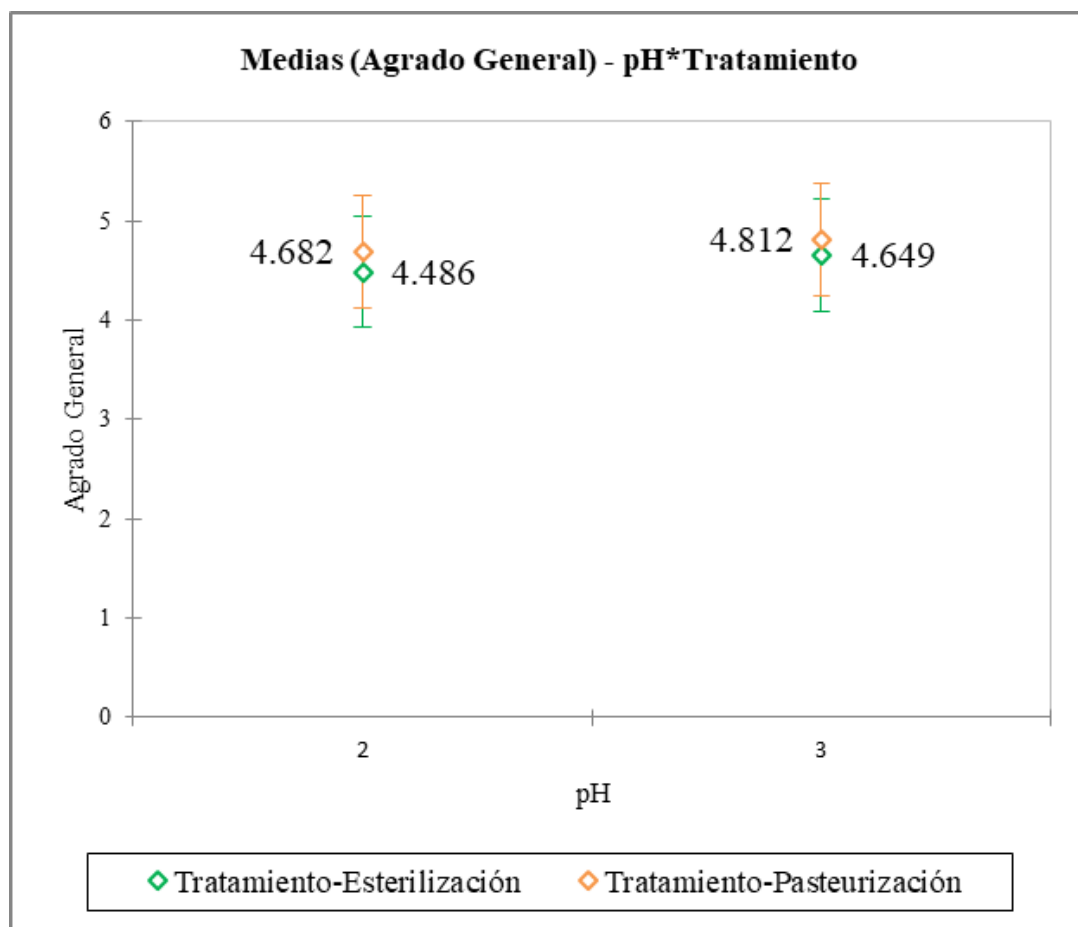


Figura 20. Efecto del pH sobre el agrado general medido con un panel sensorial de 104 personas, a cuatro distintos prototipos de jarabe dulce con espirulina, para determinar su efecto sobre el agrado general del producto.

Tomando en consideración los tres parámetros de calidad estudiados, se puede mencionar que la combinación de tratamiento térmico y formulación óptimos corresponden a la formulación de pH de 3.9 y pasteurización. Utilizando esta combinación se obtiene el producto más viscoso, el más verde y más azul, indicando que hay una menor afectación de los pigmentos clorofila y ficocianina. Además de esto, se obtuvo el segundo producto más claro de los cuatro prototipos elaborados. Es por estas razones que se elige dicho producto para continuar con las pruebas de análisis fisicoquímico.

5.4. Conclusiones y recomendaciones

Tomando en cuenta la viscosidad de los prototipos, se puede notar un efecto tanto del tratamiento térmico como de la formulación. En el caso de la formulación del producto, este tiene un efecto que se divide en dos factores: los azúcares de la formulación y el pH final de la misma. En el caso de los azúcares, entre mayor concentración de azúcares en general haya, más viscoso es el producto final. Por su parte, el pH final del producto afectó la conformación de las proteínas y su estructura, haciendo que el producto final fuera más fluido a menores valores de pH (2,9).

En cuanto al efecto que tiene el tratamiento térmico, se determina que entre más severo sea el tratamiento térmico, se va a tener un producto final más fluido. El daño sufrido por la estructura del producto, debido al tiempo prolongado a temperaturas altas, es suficiente para generar diferencias significativas entre las viscosidades finales de los productos.

Se presentó un efecto significativo de la interacción de los factores ‘formulación’ y ‘tratamiento térmico’, para cada uno de los tres parámetros medidos por el colorímetro (L^* , a^* y b^*). Dicho esto, al observar los resultados, se determinan tres tonalidades distintas, siendo la formulación a pH 3.9, tratada mediante una pasteurización, la que tiene una mayor tonalidad verdosa, lo que se podría deber a una menor afectación de la clorofila.

En lo que respecta al parámetro b^* específicamente, se puede observar cómo este depende de lo que ocurre con ambos pigmentos, ficocianina y clorofila. Tres valores distintos de b^* pudieron ser diferenciados para cada muestra, lo cual indica que tanto variaciones en la formulación y tratamiento térmico podrían tener una influencia. De estos resultados, se puede afirmar que el producto con una coloración más azulada es el que tiene una formulación de pH 3.9 y tratado térmicamente mediante una pasteurización, significando que esta es la combinación más leve de ambos factores.

Al igual que los parámetros a^* y b^* , se determina que la interacción de los factores ‘tratamiento térmico’ y ‘formulación’ es significativa para el parámetro L^* . Siendo los tratamientos pasteurizado y esterilizado de pH 2.9 los más oscuros. El parámetro L^* depende del cambio en los pigmentos, pero también de los cambios por precipitación de proteínas causada por interacciones de otros compuestos, u otras reacciones como el pardeamiento no

enzimático. De esta forma, se requiere más estudios para comprender realmente cuáles fenómenos suceden al combinar calentamiento y el cambio de pH sobre el cambio de color.

Por último, no se encuentra un efecto significativo de los factores en el análisis sensorial, indicando así que para el grupo de 104 panelistas ninguno de los productos sabe particularmente mejor o peor que los demás. No se cuentan con medias que superen la puntuación de 5 (mitad de la escala), por lo que se puede hablar de que, al tratarse de un producto tan desconocido, los participantes se sienten más cómodos atribuyendo valores medios de la escala.

6. Capítulo 3

6.1. Objetivo 3

Determinar la composición fisicoquímica, composición nutricional y la calidad microbiológica del prototipo final.

6.2. Metodología

La caracterización fisicoquímica, nutricional y microbiológica se realizó para el prototipo pasteurizado de pH 3.9. Aunque este prototipo no obtuvo calificaciones de agrado general significativamente mayores, fue el que obtuvo el mayor valor medio de agrado, el color azulado-verdoso más intenso y brillante, así como la mayor viscosidad.

6.2.1. Análisis fisicoquímico del producto final

Los parámetros químicos medidos fueron: cenizas, humedad, proteína, acidez, pH, grados Brix, grasa, vitamina C y azúcares. Los análisis fueron realizados en el laboratorio de análisis químico del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología en Alimentos (CITA). Los valores obtenidos fueron comparados con algunos medidos directamente en la materia prima utilizada para la elaboración del producto (espirulina en polvo) o valores teóricos encontrados en la literatura. Para cada uno de los análisis se realizaron tres repeticiones, se calculó un promedio de los resultados. A continuación, se detallan los procedimientos utilizados para cada uno de los análisis ejecutados, se reportan el promedio de los resultados, y la incertidumbre de los análisis en cuadros para cada parámetro.

6.2.1.1. Cenizas y humedad

Para la realización de la determinación de la humedad y cenizas en el producto final, se realizó un análisis automático donde se obtuvo el valor de ambos parámetros. Para esto se empleó un analizador termogravimétrico (LECO, TGA 801, Saint Joseph, MI, EE. UU.). Se utilizaron crisoles y tapas, los cuales se encontraban previamente secos (a 100 °C durante 1 h) se dejaron secar en un desecador y se enfriaron a temperatura ambiente. Una vez alcanzada esta temperatura, se cargaron en el carrusel de muestras en crisoles cerámicos. Una vez en el carrusel del equipo, se agregó una masa constante de cada una de las muestras, el cambio de masa de cada muestra se controló secuencialmente a lo largo de un análisis con el porcentaje

de cambio de masa. Los datos se tomaron utilizando el programa TGA v1.46. Para el análisis de humedad, el sistema se ajustó a una temperatura de 110 °C y se calentó hasta obtener masa constante. Para la ceniza, el sistema completó la combustión oxidativa de la materia orgánica hasta lograr la ceniza blanca, y obtener de igual forma masa constante (Cortés-Herrera *et al.*, 2021). El equipo reporta ambos valores de manera automática. Los valores fueron tabulados y analizados posteriormente.

6.2.1.2. Proteína (P-SA-MQ-003).

Para la determinación de la cantidad total de proteína de la muestra del producto final, se siguieron las siguientes etapas.

▫ Digestión de la muestra

Se conectó el digestor, se encendió el equipo y se seleccionó el botón MENU, luego se seleccionó el programa de digestión denominado “Bajo N”.

- Bajo N (líquidos): 180 °C 24 min y 420 °C 1 h (Método C)

Se midió la masa de muestra directamente en el tubo ayudándose con una pipeta y luego se adicionó el papel al tubo. Se midió 0,1g del patrón de arginina en dos tubos y en otros dos tubos el material de control de calidad, por último, se colocó un papel bajo en nitrógeno en tres tubos, estos se rotularon como “blancos”. Se agregaron dos tabletas Kjeltabs y 15mL de ácido sulfúrico concentrado a las muestras, materiales de control y blancos.

Se colocaron los tubos de digestión en el soporte. Se verificó que los sellos del colector de escape estuvieran todos en su lugar y que se ajustaran bien a la boca de los tubos. Se encendió la unidad de depuración Scrubber. Inicialmente en la digestión se colocaron en el modo automático o de velocidad máxima. A los 30 minutos, de manera manual, se bajó la velocidad tres veces. Se colocó el soporte con los tubos en la plantilla del digestor. Se ajustó el colector de escape. Una vez completada la digestión, se extrajo el soporte de los tubos con el colector de escape en su sitio y se colocó en el soporte de enfriado. Se puso la unidad de depuración en una velocidad menor (se baja la velocidad tres veces más). Cuando los tubos estuvieron fríos, se retiró el colector de escape y se colocó en su lugar, se colocó la bandeja

de escurrido en el colector de escape y se apagó la unidad de depuración. Se agregó aproximadamente 5mL de agua a cada tubo, para evitar que se solidifique.

▫ Destilación de la muestra

Para iniciar el análisis se lavó y precalentó el equipo. Se eligió el programa dos, se colocó un Erlenmeyer con las mangueras de destilado dentro y un tubo de digestión vacío, se presionó el botón de iniciar (color naranja con una flecha en círculo). Se repitió una vez más. Se colocó el tubo con la muestra y un nuevo Erlenmeyer y se realizó la destilación. Entre una muestra y otra, se enjuagó las mangueras con una pequeña cantidad de agua grado 2.

Al finalizar la destilación de la muestra se retiró el Erlenmeyer del equipo y se procedió a valorar con ácido clorhídrico 0,2 mol/L, hasta el punto final que es de color lila. Los blancos de cada lote de proteína y de fibra dietética, se valoraron con una bureta de 5mL. Para la valoración, se utilizó la bureta más adecuada, de acuerdo con el valor estimado de proteína en la muestra que se estuviera analizando. Una vez terminado el análisis se reportaron los resultados.

6.2.1.3. Acidez total (P-SA-MQ-011).

Se midió una cantidad de muestra tal que el gasto de NaOH 0,1 mol/L fuera aproximadamente entre 10 mL y 50 mL. Se utilizó un titulador automático, se aseguró de que el vaso contenga al menos 30 mL de la muestra o extracto, para garantizar que el electrodo quedara bien sumergido. Una vez alcanzado el punto final de la valoración, se utilizó el dato de volumen consumido y se realizó el cálculo de la acidez siguiendo la siguiente fórmula. Los resultados obtenidos fueron tabulados y analizados

6.2.1.4. pH (P-SA-MQ-012).

Para realizar la medición de pH de las muestras se permitió que el equipo se estabilizara esperando la señal del equipo “S” antes de anotar cada lectura. Se enjuagaron, secaron los electrodos y se repitió sobre una porción nueva de muestra. Se realizaron siempre

dos mediciones, en dos porciones de muestra diferentes. Se reportaron y tabularon los resultados con dos decimales.

6.2.1.5. Grados Brix (P-SA-MQ-046).

Se colocó el refractómetro en una posición tal que difunda la luz natural o cualquier otra forma de luz artificial, que pueda utilizarse para iluminación. Se hizo circular agua a 20 °C a través de los prismas. Se limpió cuidadosamente con alcohol y/o éter de petróleo (si se trabajó una muestra con grasa o hay grasa en el prisma) los prismas antes de hacer la lectura. Se verificó la exactitud del refractómetro con agua a 20 °C a esta temperatura, el índice de refracción del agua es de 1.3330. Se realizó una verificación previa del refractómetro, utilizando para ello materiales de referencia de 0, 10 y 40 °Brix. Para cargar el refractómetro se abrió el doble prisma girando el tornillo correspondiente y se colocaron unas gotas de agua, muestra o material de referencia sobre el prisma de abajo, se cerró y ajustó finamente la perilla más pequeña girándola hasta que se aclaren los campos claro – oscuro. Se giró la perilla más grande del aparato hasta que el campo visual se dividió exactamente por la mitad en dos partes, una luminosa y otra oscura. La línea divisoria entre esas dos partes, se le conoce como "línea margen". Se leyó directamente la escala Brix. Para la muestra se utilizó un factor de dilución de 1:5, al resultado leído se le realizó una multiplicación por el factor de dilución de 5 y este fue el dato reportado. Los datos obtenidos fueron tabulados y analizados.

6.2.1.6. Análisis de grasa (P-SA-MQ-005).

Se secó la cantidad de producto establecida, en las condiciones especificadas en la determinación de humedad. Se trasvasó cuantitativamente la masa seca a un embudo con papel de filtro *Whatman* N° 4 o equivalente. Se lavó con cinco porciones de 20 mL de agua grado 3 y se descartó el filtrado. Se secó el residuo en el papel filtro en estufa de convección natural a 60 °C, durante toda la noche. Una vez que la muestra estaba seca, se colocó en el extractor correspondiente *Soxhlet*, utilizando cartuchos con papel *Whatman* N° 4. Se agregó éter de petróleo en tal cantidad que se rebasó dos veces la trampa, permitiendo que el éter de petróleo llegara al balón. El extracto etéreo se recogió en un balón o beaker, según se use *Soxhlet* o *Goldfish* respectivamente, fue secado en la estufa de convección natural por un periodo de al menos 1 h a 100 °C, enfriado en el desecador y medido en balanza analítica. El

período de extracción fue de 8 h a una velocidad de condensación mayor o igual a dos a tres gotas/s, en *Soxhlet*. Se evaporó la mayor parte del éter en el evaporador rotatorio (*Soxhlet*) o en el mismo equipo *Goldfish*. Se secó el extracto, dejándolo en la estufa de convección al menos 2 h a 100 °C, se enfrió y se midió la masa. Luego se repitió el proceso de secado por periodos de 1 h, se enfrió y midió la masa, hasta alcanzar masa constante. Los datos obtenidos fueron tabulados y analizados a continuación.

6.2.1.7. Vitamina C (P-SA-MQ-024).

Para la medición de la Vitamina C en el producto final, se siguieron los siguientes pasos.

Preparación del extracto

Se midió en balanza analítica entre 10 g de muestra en un tubo de centrifuga por duplicado. Se adicionaron 1mL de disolución extractora de MPA utilizando una probeta. Se agitó la mezcla por 2 min, con la ayuda de un vortex y luego se mantuvo la agitación por 1 hora con la ayuda de un agitador múltiple. Se colocaron los tubos en la centrifuga. Se centrifugaron los tubos a 3 000 xG (4 000 rpm) por 10 min a 4 °C. Se preparó un balón aforado de 50 mL con un embudo en la parte superior que contenga un pedacito de algodón a modo de filtro, para evitar que pasen partículas grandes. Se sacaron los tubos de la centrifuga; se decantó todo el líquido sobrenadante haciéndolo pasar a través del embudo para recolectar en el balón de 50 mL. Se repitió el centrifugado una vez más. Se aseguró de suspender de nuevo el pellet formado, se utilizó una espátula limpia para remover el fondo y enjuagar luego con MPA. Se lavaron las paredes del embudo con la disolución de MPA fría y se recolectan todos los lavados en el balón de 50 mL. Se esperó a que el extracto se tempera y aforar el balón con la disolución de MPA a temperatura ambiente. Se tomó una alícuota de extracto y se colocó en una jeringa con un filtro microporo de (0.45 o 0.20) μm acoplado al extremo. Se filtró la disolución y se colocó el filtrado en un vial para cromatografía. Este es el extracto que se inyectó en el equipo.

Reducción de ácido dehidroascórbico a ácido ascórbico para la determinación de vitamina C total en el extracto

Se colocó en un vial para cromatografía de 2 mL de capacidad, 500 µL del extracto de la muestra y 500 µL de disolución de fosfina 40-mmol/L, previamente preparada. A partir de la adición de la fosfina comienza a correr el tiempo de reacción. Se colocó el vial dentro un horno que se encuentra a 30 °C. La reacción de reducción de ácido dehidroascórbico a ácido ascórbico se realizó en 40 min. Luego de transcurrido el tiempo, se inyectó la muestra en el cromatógrafo.

Preparación de la curva de calibración de ácido ascórbico

Se midió en balanza analítica 0,1 g de ácido ascórbico sólido con pureza 99%, en un balón de 50 mL. Se adicionó al balón 2 mL de disolución extractora de MPA y agua grado 1, se agitó para disolver el sólido. Esta es la disolución madre de ácido ascórbico de 2 000 mg/L aproximadamente. Se prepararon seis estándares de ácido ascórbico en balones de 10 mL utilizando agua grado 1 para aforar los balones. Se inyectaron los estándares en el equipo de cromatografía.

A partir de la curva generada se interpoló el valor obtenido del cromatógrafo para obtener la concentración de vitamina C en la muestra.

6.2.1.8. Perfil de azúcares (P-SA-MQ-006).

Preparación de muestra

Según los grados Brix de la muestra se realizó la dilución correspondiente filtrando previamente la muestra por microporo (0.20 µm o 0.45 µm) y se diluyó con agua grado 1 en un balón aforado según corresponda.

Preparación de disoluciones estándar para la curva

Para la cuantificación se preparó una disolución madre de 1,0. g / 100 g, midiendo una masa de 0.1000 g de cada uno de azúcares para cuantificar (fructosa, sacarosa, glucosas, maltosa) en un balón de 10 mL y se llevó a la marca de aforo con agua grado 1 (en su defecto se puede utilizar 0.05 g en 5 mL). La curva se realizó inyectando volúmenes distintos de la disolución madre.

A partir de la curva generada se interpoló el valor obtenido del equipo de HPLC para obtener la concentración de azúcares totales en la muestra.

6.2.2. Análisis microbiológicos

El análisis se llevó a cabo en un laboratorio externo de análisis microbiológico. Al no contarse con algún producto similar en el mercado, no se puede contar con un método de referencia o productos similares donde se haya realizado un conteo microbiológico. Se utilizaron una serie de normas internacionales, aplicadas para jarabes de caña de azúcar, con tal de obtener parámetros microbiológicos con cuales comparar la calidad del producto final. De acuerdo con la investigación realizada por Belé, *et al.*, (2019) se establecieron los parámetros microbiológicos a analizar. Los parámetros seleccionados fueron: Recuento Total Aerobio Mesófilo (RTA), Recuento de Mohos y Levaduras, Recuento de Coliformes Totales y Recuento de *Escherichia Coli*. Los análisis se realizaron en un laboratorio externo. A continuación, se detalla la metodología empleada realizando tres repeticiones

6.2.2.1. Recuento total aerobio (BAM C3)

Se siguió el método establecido por la FDA en el BAM, Capítulo 3. Se pesaron 25 g de producto, y se colocaron en 225 mL de agua peptonada estéril (APE), para obtener una dilución de 1:10. Se realizaron a partir de esta dilución madre, las diluciones seriadas necesarias, colocando 1 mL de la disolución anterior, en un tubo con 9 mL de APE, evitando que se forme espuma. Se colocó 1 mL de cada dilución en una placa estéril, por duplicado. Se colocó aproximadamente entre 12 y 15 mL de agar estándar a cada una de las placas a una temperatura de 35 °C aproximadamente. Se mezcló el contenido de cada una de las placas con movimientos uniformes y rotación alterna de las placas. Seguidamente se procedió a incubar las placas durante 48 h a una temperatura de 35 °C. Pasado el tiempo de incubación, se procedió a realizar el conteo de las placas e indicar el recuento oficial de cada muestra (FDA, 2021). El resultado obtenido fue calculado y tabulado.

6.2.2.2. Recuento de mohos y levaduras:

Se sigue la metodología estipulada por AOAC 997.02. Se preparó una dilución madre de 1:10 de la muestra. Se pesó la muestra dentro de un contenedor estéril y adicionó la

cantidad apropiada de agua de peptona al 0.1%. Se mezcló la muestra y colocó en la placa de *Petrifilm*. Se colocó la Placa *Petrifilm* en una superficie plana y nivelada. Se levantó la película superior en forma perpendicular a la placa *Petrifilm*, se colocó 1 mL de la dilución de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior. Se liberó la película superior dejando que caiga sobre la muestra. Con ayuda del disco, se presionó sobre la placa hasta que se formó el círculo con la muestra. Las placas se incubaron por cinco días a una temperatura de 25 °C. Después del tiempo de incubación, se calcularon los resultados y tabularon.

6.2.2.3. Recuento de *E. coli* y coliformes totales con *Petrifilm* (AOAC 991.14):

Se pesaron 25 g de producto, y se colocan en 225 mL de agua peptonada estéril (APE). Se realizaron a partir de esta, las diluciones seriadas necesarias, colocando 1 mL de la disolución anterior, en un tubo con 9 mL de APE. Después, se colocó por duplicado 1 mL de las diluciones elegidas en el centro de la placa de *Petrifilm*. Se colocó lentamente el plástico que cubre la placa, y con el dispersor suavemente se terminó de llenar el área de la placa. Seguidamente se incubaron las placas durante 48 horas a una temperatura de 35 °C. Pasado el tiempo de incubación, se procedió a realizar el conteo de las placas e indicar el recuento oficial de cada muestra esto de acuerdo al método AOAC 991.14. Los resultados fueron tabulados.

Para el análisis de datos del análisis microbiológico se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) utilizando un nivel de significancia del 5% para determinar si existe diferencia significativa entre las repeticiones. En caso de existir diferencia significativa se aplicó una prueba de comparación de medias de *Tukey* utilizando un $\alpha = 0.05$.

6.3. Discusión de resultados

6.3.1. Análisis fisicoquímicos

A continuación, se presentan los resultados de cada uno de los análisis. Además de esto, en algunos casos se comparan los valores de los análisis realizados, con valores de los mismos análisis realizados en la materia prima empleada (espirulina en polvo comercial de la marca *Sun is Shinning*).

Cuadro XXV. Resultado del análisis de cenizas totales para la materia prima y el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo.

Muestra	Valor de ceniza total (g/100 g)
Materia prima	10.50 ± 0.40
Producto final (P.3.9.*)	0.55 ± 0.03

*Ver Cuadro XI.

De acuerdo a lo que se encuentra en la literatura, los valores de cenizas en espirulina en base seca varían entre 8.34% y 10.33 %, dependiendo del método de cultivo que tuvo la misma (Koli *et al.*, 2022; Rahman *et al.*, 2022). Al observar los resultados del análisis de cenizas del Cuadro XXV, se puede notar que la materia prima tiene valores de ceniza de 10.50%. De esta forma, la materia prima utilizada tiene valores de contenido total de ceniza concordantes con lo que se encuentra en otras investigaciones, y en el mercado.

Por el lado del producto final, no se encuentran productos en el mercado que sean similares. Analizando otros productos que se pueden encontrar, como bebidas, el contenido total de cenizas ronda entre 0.068% m/v y <0.01 g en producto final, de acuerdo a lo reportado por los productores (FUL 2023; Spirulina Becagli, 2023). De esta forma, se puede determinar que el producto final, si es consumido de manera directa, tiene un valor mayor de cenizas, en comparación con otros productos comerciales preparados. Cómo parte de estas cenizas se pueden encontrar minerales, vitaminas entre otros compuestos minoritarios.

Cuadro XXVI. Resultado del análisis de humedad total para la materia prima y el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo.

Muestra	Valor de humedad total (g/100 g)
Materia prima	3.9 ± 0.4
Producto final (P.3.9.*)	23.15 ± 0.03

*Ver Cuadro XI.

En cuanto a los resultados del análisis de humedad total, la diferencia entre los valores de la materia prima, con el producto final es bastante amplias. De acuerdo con lo indicado en el Cuadro IX, en la formulación final para este prototipo, se agregó un 23 % de agua, por lo que la totalidad de la humedad del producto final es proveniente del agua agregada. Por su parte, se puede mencionar que el aporte de humedad por parte de los demás ingredientes, incluyendo la espirulina es despreciable.

Al comparar los valores de humedad de la materia prima, con los encontrados en la literatura, se puede mencionar que la humedad en la espirulina ronda los valores de entre 9.55% y 5.81% (Koli *et al.*, 2022; Rahman *et al.*, 2022) siendo menor el contenido de humedad en la materia prima utilizada.

Cuadro XXVII. Resultado del análisis de proteína total para la materia prima y el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo.

Muestra	Valor de proteína total (g/100 g)
Materia prima	62.4 ± 0.8
Producto final (P.3.9.*)	11.4 ± 0.2

*Ver Cuadro XI.

El aporte proteico de la espirulina es una de las características más relevantes en su utilización actualmente en la industria. En la literatura se ha encontrado que los valores rondan los valores entre 65.3% y 53.4% (Yucetepe *et al.*, 2018; Rahman *et al.*, 2022). La materia prima utilizada se encuentra cerca del extremo superior de este rango, por lo que su aporte, en términos de este nutriente, es el esperado.

De acuerdo a la formulación empleada, se espera que haya un valor aproximado final de 10.82 g/100 g de producto de proteína total en el producto final. El resultado obtenido a partir del análisis fisicoquímico sobrepasa de manera leve este valor, por lo cual se considera el valor meta de proteína total en el producto final es el esperado.

Otros productos en el mercado, de características similares, como bebidas con espirulina, reportan aportes de proteína de menos de 1g o hasta 0 g de proteína por envase (FUL, 2023; Sol-Ti, 2023), por tanto, consumir el producto final obtenido de manera directa, supone un mayor aporte proteico y un potencial significativo para la dieta de los consumidores.

Cuadro XXVIII. Resultado del análisis de acidez total para el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo.

Muestra	Valor de acidez total (g/100 g)
Producto final (P.3.9.*)	1.94 ± 0.06

*Ver Cuadro XI.

No se reporta un valor de acidez total para la materia prima, ya que, al tratarse de un polvo, no se considera un parámetro de inocuidad o calidad relevante. Al observar la formulación del producto (Cuadro IX), se puede notar cómo es el ácido cítrico el que se encuentra en mayor cantidad, con un 1.5% seguido por el ácido ascórbico con un 0.4%. Considerando que, debido al tratamiento térmico, se puede dar un pequeño deterioro de estos ácidos, se puede mencionar que hay un aporte de otros ácidos provenientes en menores cantidades del resto de materias primas. La espirulina, cómo parte de su composición tiene una variedad de hasta veinte ácidos fenólicos distintos, los cuales también podrían hacer un aporte a este valor de acidez (Seghiri, 2019). Aunque la materia prima utilizada se agrega en una baja concentración de 213 mg/100 g de producto, esta puede realizar un aporte a la acidez total. Además de esto, la presencia de ácidos grasos (Soni *et al.*, 2017) puede aportar a la acidez total del producto. Dentro de los ácidos grasos que puede tener la espirulina se menciona una presencia mayoritaria de ácido γ -linoleico, ácido palmítico, esteárico, linolénico, oleico y palmitoleico (Seghiri *et al.*, 2019; Rahman *et al.*, 2022). La pérdida de

los ácidos agregados por la formulación, debido al tratamiento térmico, se pudo ver compensada por ácidos orgánicos de la espirulina, los cuales se cree podrían terminar de sumar al valor de acidez total.

Cuadro XXIX. Resultado del análisis de pH para el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo.

Muestra	Valor de pH
Producto final (P.3.9.*)	3.88 ± 0.05

*Ver Cuadro XI.

Se realizó la medición de pH en el producto final, ya que este es un parámetro clave para garantizar su inocuidad.

Para estabilizar el jarabe de espirulina se propone un tratamiento térmico de pasteurización, el cual tiene como objetivo eliminar las células vegetativas de *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonella* y *Listeria monocytogenes* (Mazzota, 2001). De acuerdo con la investigación elaborada por Mazzota (2001), se requiere de un pH menor a 3.9, para que el tratamiento térmico de pasteurización empleado funcione de manera óptima en jugos de fruta. La espirulina, al ser una microalga, por su naturaleza tiene un pH alcalino, que puede llegar a ser de hasta 9.5 (Soni *et al.*, 2017). Por este motivo, es importante la adición de ácidos en la formulación del jarabe de espirulina (Cuadro IX) hasta obtener el pH de 3.88 (Cuadro XXIX), el cual asegura la efectividad del tratamiento térmico.

Cuadro XXX. Resultado del análisis de °Brix para el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo.

Muestra	Valor de °Brix
Producto final (P.3.9.*)	51.46 ± 0.05

*Ver Cuadro XI.

Los grados Brix suelen relacionarse con la cantidad de azúcares disueltos en la disolución, de tal forma que 1° Brix, corresponde a 1% de sacarosa (Jaywant *et al.*, 2022).

Para el jarabe de espirulina obtenido como producto final, los grados Brix se expresan cómo una medida de la cantidad de sólidos disueltos. En este caso, la mayoría de los sólidos disueltos corresponden a los azúcares agregados, tal cual se indican en la formulación: 22.5 % de sacarosa, 17 % de glucosa, 10 % de sorbitol y un 8.5 % de miel, para un total de un 58 % del total de la formulación (Cuadro IX). Se agregó un. La leve diferencia observada entre el valor de grados Brix del producto, y la cantidad de endulzantes agregados, se debe a que tres de estos productos, la glucosa, miel y sorbitol, contienen un porcentaje de agua, es decir, no se agregan de manera pura, y parte de su porcentaje, no se disuelve en el producto.

Cuadro XXXI. Resultado del análisis de grasa total para la materia prima y el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo.

Muestra	Valor de grasa total (g/100 g)
Materia prima	0.43 ± 0.02
Producto final (P.3.9.*)	< 0.10 ^a

^aNo se presenta incertidumbre porque el parámetro no fue detectado en el análisis.

*Ver Cuadro XI.

De acuerdo con lo que se puede observar en el Cuadro XXXI, el producto final no tiene grasa, o al menos su valor es despreciable. En este caso, el aporte de grasa en el producto final es correspondiente únicamente al otorgado por la materia prima en polvo. En este caso se obtiene 0.43 g/100 g de producto. Al ser este un valor tan pequeño, no detectable por el equipo, se considera que no hay grasa en el producto final. Si bien es cierto, la espirulina tiene cierto porcentaje de grasa, este no es el componente principal. En algunos productos se han encontrado contenidos de entre 6.61 % hasta los 10.15 % de grasa cruda (Michael *et al.*, 2019; Rahman *et al.*, 2022). Tomando esto en cuenta, la materia prima empleada, es muy baja en su contenido de grasa, no cumpliendo así con el aporte esperado.

Cuadro XXXII. Resultado del análisis de vitamina C para la materia prima y el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo.

Muestra	Valor de vitamina C total (mg/100 g)
Materia prima	< 6.7 ^a
Producto final (P.3.9.*)	343 ± 31

^aNo se presenta incertidumbre porque el parámetro no fue detectado en el análisis.

*Ver Cuadro XI.

La materia prima carece de una cantidad detectable de vitamina C, por lo que se toma como si esta no tuviera vitamina C en su composición. La espirulina no es caracterizada por tener este tipo de vitamina dentro de su composición. En contraste, la espirulina en polvo suele contar con vitaminas del complejo B, así como las vitaminas A, D, E y K (Koli *et al.*, 2022). Sin embargo, al analizarse la materia prima, de igual forma, no se detectaron trazas de estos compuestos en el producto.

Por su parte, el producto final tiene una cantidad de 343 mg/100 g de producto final, o lo que equivale a 0.34%. Si se observa el valor de ácido ascórbico agregado, tomado del Cuadro IX, se puede notar una adición de un 0.4%, de ácido ascórbico, y hay una diferencia de un 0.06%, atribuida a la incertidumbre del análisis o el deterioro de la vitamina C durante el proceso. Por su parte, al comparar el producto final, con otros productos similares, en este caso bebidas, se encontraron valores de vitamina C de 0.0052% m/v y 0.005% m/v (FUL, 2023; Sol-Ti, 2023). De esta manera, el producto final tiene una cantidad de vitamina C muy superior a los productos que se encuentran actualmente en el mercado.

Cuadro XXXIII. Resultado del análisis de azúcares totales para la materia prima y el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo.

Muestra	Valor de carbohidratos totales (g/100 g)
Materia prima	22.7 ± 2.5
Producto final (P.3.9.*)	55.8 ± 3.1

*Ver Cuadro XI.

A partir de lo que se puede observar en el Cuadro XXXIII, con respecto a la materia prima, se encuentra que otros productos similares cuentan con valores de 15.29%, 10.7% y hasta 21.87%, siendo uno de los valores donde hay una mayor diferencia entre distintos productos (Koli, *et al.*, 2022; Michael *et al.*, 2019; Yucetepe *et al.*, 2018). La materia prima empleada se acerca más al valor superior de este rango, teniendo inclusive más del producto encontrado en la literatura. Es por esto, que el aporte de carbohidratos al producto final es alto, comprometiendo así el aporte de otros nutrientes como los lípidos, los cuales son mayores en otros ejemplos encontrados en la literatura.

En cuanto al producto final, se cuenta también con un valor superior al encontrado en productos comerciales como por ejemplo bebidas. Se encuentran valores que van desde 1.45% hasta 2.95% m/v (Spirulina Becagli, 2023; Sol-Ti, 2023). Este porcentaje de azúcares es importante en este producto ya que es necesario para garantizar su estabilidad, pues gracias a la cantidad de azúcar se logra tener un A_w de 0.85, el cual junto con el pH de menos de 3.9, ayudan como barreras para garantizar la inocuidad del producto. Este parámetro supone un desafío para el producto, ya que existen varios segmentos del mercado que consideran el alto índice de azúcares agregados como un aspecto negativo, sin embargo, este tipo de productos puede enfocarse hacia un mercado cuyo requerimiento calórico sea mayor y bien recibido. También, podría resultar necesario evaluar la posibilidad de sustituir parte de estos carbohidratos agregados por otros compuestos que cumplan las mismas funciones, aumentar el índice de sólidos en disolución, disminuir el A_w , mejorar el sabor, mantener la textura y viscosidad, pero que no aumenten tanto las calorías del producto.

Cuadro XXXIV. Resultado del análisis del perfil de azúcares el producto final elaborado a partir de espirulina en polvo.

Muestra	Valor de azúcares totales (g/100 g)
Fructosa	3.5 ± 0.5
Sacarosa	26 ± 3
Glucosa	5.6 ± 0.9
Maltosa	1.9 ± 0.3

Con respecto a los carbohidratos añadidos a la formulación, estos corresponden a un 37 % del total del producto. Dentro de los carbohidratos caracterizados, se encontraron sacarosa, fructosa, glucosa y maltosa. Todos los carbohidratos provienen de alguno de los ingredientes empleados ya sean azúcar de caña, jarabe de glucosa o miel de abeja.

La sacarosa, ingrediente principal del azúcar de caña, se encuentra en mayor cantidad, correspondiente a un 26 % del producto final. De acuerdo con el Cuadro IX, donde se muestra la formulación final empleada, se agrega 22.25 % de azúcar de caña. Es altamente probable que el restante 3.75 % de sacarosa, provenga de alguno de los otros ingredientes como la miel.

La fructosa, otro de los componentes mayoritarios de la miel de abeja, se encuentra solamente en un 3.5 %, si a esto se le suma el 3.75 % de sacarosa mencionado anteriormente, se llega a un total de 7.25 %, muy cercano al 8.5 % de miel de abeja agregado al producto final, de acuerdo con la formulación seleccionada. Por último, llama la atención que se haya detectado sólo un 5.6% de glucosa.

Comparando la cantidad de azúcar añadida presente en el producto final, con otros productos comerciales, se encuentra de igual manera que el prototipo final cuenta con niveles muy superiores de azúcares añadidos. En el caso de las bebidas de espirulina, el aporte de los carbohidratos es puramente añadido por lo que los valores de azúcar agregado son los mismos que carbohidratos totales, rondando los valores de 1.45 %, 2.85 % y hasta 2.95% m/v (Spirulina Becagli, 2023; Sol-Ti, 2023). La alta cantidad de azúcar en el producto final puede que no sea una característica buscada por ciertos consumidores que tengan un estilo de vida en el que busquen disminuir la cantidad de azúcar añadida de su consumo diario.

Por último, se presenta el Cuadro XXXV, donde se detallan los nutrientes del producto final en la porción definida de 20 g.

Cuadro XXXV. Concentración de los macro y micronutrientes principales por porción (20 g) del producto final.

Nutriente	Concentración (g / porción)
Proteína	2.28
Grasa	<10
Carbohidratos	11.16
Ceniza	0.11
Vitamina C	0.07

6.3.2. Análisis microbiológico

Cuadro XXXVI. Valor promedio del análisis microbiológico para tres muestras del jarabe dulce con espirulina elaborado a partir de espirulina en polvo.

Análisis	Recuento (UFC/g)
Recuento total aerobio mesófilo	2.1×10^2
Recuento de mohos y levaduras	40
Recuento de <i>Escherichia coli</i>	<10
Recuento de coliformes totales	<10

Para analizar la calidad microbiológica del producto final se tomaron en cuenta los resultados presentados en el Cuadro XXXVI. La Asociación Nacional de Cañeros de Brasil (RTCM, 2008) establece un límite de 50 UFC/g, mientras que la Comisión Internacional para Métodos Uniformes de Análisis de Azúcar (ICUMSA, 2004), establece un límite de 200 UFC/10 g de producto, para el análisis de recuento total aerobio mesófilo (RTA) en jarabe de azúcar. Al observar los valores de RTA obtenidos para el jarabe de espirulina, se observan valores superiores a los valores límites para el jarabe de azúcar. Con respecto al recuento de mohos y levaduras, el RTCM (2008), indica un valor máximo de 50 UFC/g, mientras que ICUMSA (2004) pide 20 UFC/10 g de producto, para los jarabes de caña de azúcar. Con el resultado del producto final de espirulina, se observa que se cumple con el límite establecido por RTCM, mas no así con el establecido por ICUMSA.

Como parte de las razones por las cuales los recuentos de mohos y levaduras, así como el RTA, resultaran por encima del establecido por las normas para jarabe de azúcar, puede deberse a la materia prima empleada. De acuerdo con estándares europeos (UE) se esperan concentraciones de 10^5 UFC/ml para el RTA y 10^4 UFC/ml para mohos y levaduras, así como 10^3 UFC/ml para este mismo microorganismo de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (WHO), en espirulina (Seghiri *et al.*, 2019). Esto habla de la posibilidad de contar con una materia prima con una carga microbiológica alta, la cual, si no se controla, a través de estándares de calidad, puede afectar de gran manera, la calidad del producto final. Se han reportado valores de 208 UFC/ml para RTA, así como 14 UFC/ml de mohos y levaduras en productos similares a la materia prima utilizada.

De igual manera, para el caso de *E. coli* en esta matriz, se han reportado que en casi el 40 % de los casos se encuentra presencia de esta bacteria en productos de espirulina en polvo (Seghiri *et al.*, 2019). Tomando en consideración este aspecto, es posible que la calidad microbiológica del producto final se viera afectada por la calidad de la materia prima, sumado al hecho del proceso, que no es igual que la producción de jarabe de azúcar, explica por qué no se cumplen exactamente con parámetros microbiológicos establecidos a partir de productos similares. Por último, para el parámetro de coliformes fecales y *E. coli*, se cumple con lo establecido por ANVISA (2001) para el producto final, pues esta institución establece un máximo de 10^2 UFC/g de coliformes fecales en jarabes de azúcar de caña (Belé *et al.*, 2019).

Es importante, retomar que los jarabes de azúcar tienen un proceso completamente distinto al empleado para obtener el jarabe de espirulina. Los jarabes de azúcar cuentan con etapas de calentamiento y evaporación, las cuales son importantes aumentos de temperatura para obtener las características esperadas del producto (Singh, 2015). En este caso, se puede llegar a calentar el producto hasta a 95 °C, o temperatura de ebullición, y en esta etapa calentar hasta llegar a un porcentaje de sólidos del 65 % y 35 % de agua (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, 2020). Esta disminución del porcentaje de agua supone un tratamiento térmico prolongado, lo que genera una mayor letalidad del tratamiento térmico y por ende un menor recuento microbiológico. Tomando en consideración la carga microbiológica reportada en la literatura que tienen materias primas similares a las utilizada,

y la diferencia entre los tratamientos térmicos, se puede determinar la razón por la cual no se cumplen con estándares de calidad microbiológica dados por las normas contra las que se comparó el producto.

6.4. Conclusiones y recomendaciones

Los análisis físico-químicos y microbiológicos brindan una caracterización inicial del jarabe de espirulina obtenido como producto final, señalando sus fortalezas y puntos de mejora. En comparación con productos encontrados en el mercado, el jarabe a base de espirulina en polvo es un producto con mayor contenido de proteína y de vitamina C, ambos son nutrientes buscados por los consumidores para incluir en su dieta, lo que hace que sean características deseables en el producto.

En contraste, se tiene un producto con un alto contenido de carbohidratos, y altamente calórico. Este es un factor que puede ir en contra del producto, pues algunos consumidores hayan esta característica como indeseable, sin embargo, existe la posibilidad de dirigir el producto hacia un segmento especializado. En cuanto a otros nutrientes y características, se encuentran valores similares a los otros productos del mercado como bebidas con adición de espirulina, lo cual es esperado al plantearse la formulación del producto.

En cuanto a la materia prima, específicamente a la espirulina en polvo, esta presenta valores nutricionales muy similares a los reportados en la literatura. Específicamente en cuanto a la proteína, la materia prima utilizada presenta un valor más alto (62.4 %), esto hace que sea considerada una materia prima de más alta calidad. Se debe recordar que las características fisicoquímicas de la espirulina dependen de sus condiciones de producción, por esto es crucial tener un control de estas para tener una materia prima de calidad y estandarizada, lo cual se va a ver reflejado de la misma forma en el producto final.

Finalmente, en cuanto a la calidad microbiológica del producto final, se puede ver cómo esta depende de gran manera de la calidad microbiológica de materias primas. De acuerdo con la literatura, la espirulina, por sí sola, es una materia prima con posibilidad de presentar una alta carga microbiológica, por lo que se recomienda prestar atención a este factor desde las etapas tempranas de producción y así se tenga el menor impacto posible sobre el producto final. Se recomienda realizar un análisis de la calidad microbiológica de la materia prima utilizada, para de esta forma confirmar lo que se reporta en la literatura y verificar si el origen de los microorganismos en el producto final se debe a la espirulina en polvo, u otro factor. Además de esto, materias primas como el azúcar pueden presentar una carga microbiológica

importante, por lo que, de igual manera, tener un control sobre esta termina beneficiando al producto final. Tomando en cuenta que el tratamiento térmico es leve, y no se eliminan todas las células vegetativas presentes, se debe tener cuidado durante la preparación del producto. En cuanto al tratamiento térmico, se puede decir que este fue efectivo, pues no se cuenta con recuento de los microorganismos patógenos de referencia, *Escherichia coli*. Tomando todo esto en cuenta, se puede evaluar utilizar un agente antimicrobiano como lo es el sorbato de potasio o benzoato de sodio, recordando siempre que la primera barrera es contar con materias primas y un proceso de alta calidad.

7. Capítulo 4

7.1 Objetivo 4

Valorar la opinión y aceptación general del consumidor, tomando en cuenta el efecto del color y la familiaridad con la espirulina.

7.2. Metodología

7.2.1. Localización y materiales

Para la resolución de este objetivo, se emplearon únicamente tres de los prototipos elaborados con anterioridad. En este caso los tres prototipos tienen el mismo valor de pH 3.9, pero se diferencian en la materia prima utilizada y el tratamiento térmico sufrido (Cuadro XXXVII).

Cuadro XXXVII. Muestras evaluadas por un panel de 104 participantes (n=104) en una prueba de ordenamiento y de agrado general, para determinar el efecto del color sobre la percepción de un jarabe con contenido de espirulina.

Prototipo	Tratamiento térmico	Color	Materia prima utilizada	Código de presentación	pH
1	Pasteurización (t: 39 s; T: 95 °C)	Verde esmeralda	Espirulina verde en polvo	127	3.9
2	Esterilización (t: 105 s; T: 95 °C)	Verde musgo	Espirulina verde en polvo	250	3.9
3	Pasteurización (t: 39 s; T: 95 °C)	Azul	Espirulina azul en polvo	894	3.9

El análisis fisicoquímico de color fue realizado en las instalaciones del Laboratorio de Análisis Químico del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA). Las pruebas sensoriales con consumidores fueron realizadas de manera híbrida, donde parte

de los participantes completaron la prueba desde sus hogares y otros la completaron en las instalaciones del Laboratorio de Análisis Sensorial de la Escuela de Tecnología de Alimentos (ETA) de la Universidad de Costa Rica. Las sesiones grupales con consumidores fueron llevadas a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Análisis Sensorial del CITA.

7.2.2. Medición de color

Se realizó una medición de los parámetros de color L^* , a^* y b^* siguiendo la misma metodología empleada en el objetivo 2, apartado 5.2.2.2, pero tomando en cuenta un paso extra, en el cual las muestras se diluyeron en agua en una proporción 1:10. Los resultados fueron tabulados y analizados mediante un ANOVA de un factor, el cual correspondió al color. Las variables respuesta correspondieron a cada uno de los parámetros de color L^* , claridad, a^* tonos azulados o amarillentos, y b^* tonos verdosos o rojizos. En caso de encontrarse diferencias significativas para las medias de los valores de cada uno de estos parámetros, se realizó una prueba de diferencia de medias (*Tukey*), con un valor de $\alpha = 0.05$. Los resultados finales fueron tabulados y discutidos en la sección de resultados y discusión.

7.2.3. Sesiones grupales

7.2.3.1. Reclutamiento

Se tomó una muestra de ocho participantes, donde los criterios de selección fueron el nivel de familiaridad con la espirulina (50% familiarizados con el consumo de espirulina y 50% no familiarizados con el consumo de espirulina). No se establecieron restricciones de edad, género, ni nivel educativo. Se reclutaron un total de ocho participantes, sin embargo, uno de estos se ausentó, por lo que el total del *Focus Group*, fue de siete participantes ($n=7$). El grupo contó con participantes entre los 22 y 63 años de edad. De ellos cinco participantes fueron mujeres y dos hombres. Los participantes firmaron un consentimiento informado, donde se describe la naturaleza del análisis, y cómo serán utilizados los datos (Anexo 9.10).

7.2.3.2. Recolección de datos.

Para la recolección de datos se usó de la técnica de sesiones focales pequeñas (“*Mini Focus Group*”) (Nyumba *et al.*, 2018), donde se realizaron dos sesiones, una de tres y otra de cuatro personas. En la primera sesión se contaba con una persona familiarizada con el consumo de espirulina, y en la segunda sesión se contaba con 3 personas familiarizadas con

el consumo de espirulina. Esto refleja un total de cuatro personas familiarizadas con el consumo de espirulina, y tres personas no familiarizadas. Las sesiones focales se realizaron de forma presencial en las instalaciones del Laboratorio de Análisis Sensorial del CITA. Cada una contó con la presencia de un moderador y un observador. Se construyó una guía de moderación con una serie de preguntas abiertas y ejercicios proyectivos (Anexo 9.11). En dicha guía se incluyeron preguntas referentes a la evaluación de los prototipos realizada previamente en la sección del análisis sensorial cuantitativo. Se plantearon tres opciones de aplicaciones distintas, con las cuales los participantes interactuaron para obtener información sobre la viabilidad de utilizar el producto en escenarios realistas de consumo, como se pueden observar en la Figura 21. En primer lugar se presentó un yogurt natural con cada uno de los jarabes, y una serie de toppings para acompañar. Seguidamente una bebida, con cada uno de los jarabes, agua carbonatada y limón. Por último, helado de vainilla con topping de arroz tostado y chocolate. Los datos se documentaron a través de una grabación de voz, así como notas escritas de los aspectos más importantes discutidos.



Figura 21. Escenarios de consumo propuestos para los jarabes dulces con espirulina.

7.2.3.3. Análisis de datos

Las sesiones focales se grabaron y transcribieron de manera inequívoca. Las transcripciones fueron analizadas de forma manual, por medio de la creación de categorías temáticas y análisis a profundidad. Los resultados fueron descritos en forma de prosa o representaciones gráficas cuando fue conveniente, además se utilizaron extractos de texto o “*verbatim*” para ilustrar hallazgos significativos de la investigación. Finalmente, se realizó un análisis cruzado para evaluar la coincidencia de los hallazgos encontrados mediante las técnicas tanto cuantitativas (sección 7.2.3.), como descriptivas del presente apartado.

7.2.4. Análisis con panel sensorial

Se realizó un panel sensorial con 104 panelistas, el cual constó de dos partes: una prueba de ordenamiento visual y una prueba de agrado general.

7.2.4.1. Prueba de ordenamiento

7.2.4.1.1. Panelistas

El perfil de los participantes, y la metodología de reclutamiento fue el mismo empleado para la prueba de agrado general descrita en el apartado 5.2.2.3 de metodología del Capítulo 2 de este documento.

7.2.4.1.2. Muestras

La prueba de ordenamiento tomó en cuenta únicamente tres de los prototipos de jarabe de espirulina elaborados en el apartado del Capítulo 2. Los tres prototipos presentados tenían un pH de 3.9 y variaban en su coloración y el tipo de tratamiento térmico aplicado, según se muestra en el Cuadro XXXV, y cuyas formulaciones y proceso de fabricación se muestran en los Cuadros IX y XII. Los prototipos se codificaron con un número de 3 dígitos generado con el programa *Fizz Byosistem* versión 2.47, tal y como se presenta en el Cuadro XXXV. Las muestras fueron aleatorizadas y balanceadas para cada uno de los panelistas que participaron en la prueba.

7.2.4.1.3. Aplicación de la prueba

A cada persona se le presentó una bandeja como la que se muestra en la Figura 12. Para llevar a cabo la tarea de ordenamiento, se les indicó a los participantes abrir únicamente los sobres con los códigos correspondientes a las tres muestras a analizar. Se les pidió colocar una cucharada de cada uno de los prototipos a analizar en el frasco transparente con agua hasta la marca que indica la medida. Esta dilución corresponde a 1:10 aproximadamente.

A continuación, se les pidió a los participantes completar cinco ordenamientos distintos correspondientes a los atributos: saludable, natural, dulce, ácido y rico. Los participantes debían ordenar las muestras desde el nivel más bajo (1-el más) hasta el nivel más alto (3-el menos). El formulario se construyó con el programa *Fizz Byosysteme* versión 2.47 y se administró en formato digital (Anexo 9.9) mediante la plataforma *Fizz Web*.

7.2.3.1.4. Análisis de datos

Para el análisis de los resultados se realizó una comparación de la frecuencia con la que cada uno de los tres prototipos se colocaba en el primer lugar para cada atributo de interés, haciendo diferencia entre el grupo de participantes familiarizado y el grupo de participantes no familiarizado.

Con el fin de determinar si existe relación entre la familiaridad y la percepción de color como el más dulce, ácido, saludable o rico, se realizó una prueba de Chi Cuadrado por atributo. Cada tabla de contingencia se construyó tomando en cuenta el factor familiaridad (familiarizado, no familiarizado) y el factor color (azul, verde esmeralda y verde musgo). Los conteos se realizaron considerando la cantidad de veces que las personas familiarizadas o no familiarizadas escogieron un determinado color como “el más _____ (dulce ácido, saludable o rico).”

Para analizar si el nivel de familiaridad con la espirulina tiene alguna relación con la forma en la que se perciben los tres colores obtenidos para el jarabe de espirulina, se aplicó una prueba de Chi Cuadrado a partir de los datos de ordenamiento jerárquico por atributo. Se tabularon las frecuencias de selección expresadas como porcentaje, de las veces que los participantes colocaron cada uno de los prototipos como el que mejor cumple, y el que peor cumple cada uno de los cinco atributos. Estos resultados se tabularon y compararon entre los

dos grupos de la muestra, con el fin de determinar cómo afecta la familiaridad sobre la percepción del color y tomando en cuenta cada uno de los atributos analizados.

Se realizó un análisis de Friedman por atributo con el objetivo de determinar si hay un efecto significativo del color sobre la forma cómo se percibe cada uno de estos atributos. Se tomó en cuenta el nivel de familiaridad separando los resultados en cada uno de los grupos con los dos niveles de familiaridad distinto. Se tomó un valor de significancia del 5 %. En el caso de los atributos en los cuales sí se encontró una influencia del color sobre su percepción, se realizó una prueba de comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi. Los resultados se presentan en los cuadros del apartado de resultados (7.3.3.) donde las letras distintas denotan muestras con una distinta influencia sobre los resultados de los ordenamientos.

Con el fin de contrastar las expectativas generadas por los consumidores, a partir de la observación del color de los productos, con los valores de agrado general, se construyeron tres perfiles de sabor esperados, uno para cada producto. Los gráficos del perfil esperado, se elaboraron a partir de los porcentajes en los cuales los participantes colocaron cada producto cómo el que mejor cumple cada uno de los atributos analizados (saludable, natural, dulce, ácido y rico). Estos gráficos se asociaron con los resultados de agrado general obtenidos una vez que los participantes consumieron las muestras. Los datos fueron tabulados y explicados con información y datos cualitativos obtenidos a partir de las sesiones cualitativas de *Focus Group* realizadas (apartado 7.2.2).

7.2.4.2. Prueba de agrado general

7.2.4.2.1. Panelistas

El perfil de los participantes, y la metodología de reclutamiento fue el mismo empleado para la prueba de agrado general descrita en el apartado de metodología del Capítulo 2 de este documento.

7.2.4.2.2. Muestras

Las muestras empleadas para la prueba de agrado general corresponden a las mismas que se emplearon en la prueba de ordenamiento. El detalle de las muestras se denota en el Cuadro XXXV.

7.2.4.2.3. Aplicación de la prueba

Se aplicó la prueba de agrado general, de la misma forma como se encuentra detallado en el apartado 5.2.2.3 de la metodología, correspondiente al Capítulo 2 de este documento.

7.2.4.2.4. Análisis estadístico

Para el análisis de datos se utilizó un diseño multifactorial de dos factores (familiaridad y color). Cada factor constaba de distintos niveles (familiarizado y no familiarizado) y (azul, verde esmeralda y verde musgo), respectivamente. La variable respuesta por analizar fue agrado general. Para el análisis se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) utilizando un nivel de significancia del 5% para determinar si existe diferencia significativa color sobre el agrado general de los prototipos. En caso de existir diferencia significativa se aplicó una prueba de comparación de medias de *Tukey* utilizando un $\alpha = 0.05$.

7.3. Resultados y discusión

7.3.1. Medición de color

Recordando las escalas de color en las que se mide mediante el método CielAB, el parámetro L^* determina la luminosidad del color, desde 0 hasta los 100, mientras que los parámetros a^* y b^* van en una escala de -180 a $+180$, donde se representa los tonos verde y azul en la parte negativa de la escala, y los tonos rojo y amarillo en la parte positiva de la escala respectivamente. Tomando esto en consideración, se realizó el análisis para determinar si la diferencia entre los tres colores es significativa para cada uno de estos parámetros. Los valores p críticos calculados por el análisis de varianza (ANOVA) realizado se presentan en el cuadro a continuación.

Cuadro XXXVIII. Valores de p crítico para los parámetros L^* , a^* y b^* de color, calculados para tres muestras de jarabe de espirulina con pH 3.9, con el fin de determinar si existe una diferencia de color entre los mismos.

Parámetro de color	Valor de p crítico
L^*	<0.001
a^*	0.002
b^*	<0.0001

Como se puede observar en el Cuadro XXXVIII, se puede concluir que como los valores de p crítico son menores al valor de $\alpha=0.05$, las diferencias entre los tres prototipos, para cada uno de los parámetros de la escala CielAB, son significativamente distintas. Dicho esto, se realizó una prueba de comparación de medias (*Tukey*), y se identificaron las muestras que son significativamente distintas en cada uno de estos parámetros. Los resultados de la prueba de comparación de medias se presentan en el Cuadro siguiente, donde las medias denotadas con letras distintas en su súper índice son significativamente distintas entre sí.

Cuadro XXXIX. Medias de los parámetros L*, a* y b* para cada uno de los tres productos analizados con el fin de determinar las diferencias entre los colores de cada uno de ellos.

Prototipo	L*	a*	b*
Azul	14.967 ^a	-2.207 ^a	-28.467 ^a
Verde Esmeralda	7.460 ^b	-5.303 ^b	5.827 ^b
Verde Musgo	7.287 ^b	-2.400 ^a	7.737 ^b

De acuerdo con lo observado en el Cuadro XXXIX, ninguno de los tres colores es igual a otro. Las diferencias entre las tres muestras se presentan en cada uno de los parámetros de la escala CieLAB. En el caso del producto azul, este es distinto a los productos verde musgo y verde esmeralda, en el parámetro L* y el parámetro b*. Como indican las medias calculadas, este producto es más claro y significativamente más azul que los otros dos productos. En el caso del producto verde esmeralda, este presenta diferencias con los otros dos productos, únicamente en el caso del parámetro a*, denotando que es un producto con un mayor tono verdoso que los otros dos. Para los parámetros L* y b*, se encuentra en la misma categoría que la muestra verde musgo, indicando así que es igual de oscura e igual de azulada que esta otra muestra. Finalmente, el producto verde musgo, en los tres parámetros se encuentra en la misma categoría que algún otro producto, es decir es igual de oscuro y azulado que el verde esmeralda, y también igual de verdoso que la muestra azul. De esta manera, se puede decir, que como en ningún caso los productos coinciden entre sí, dentro de la misma categoría para cada uno de los parámetros, entonces se cuentan con tres colores distintos. De esta manera, se puede asegurar que los tres productos evaluados por los panelistas y en el *Focus Group*, desde la perspectiva instrumental, efectivamente son distintos entre sí.

7.3.1. Sesiones grupales

A continuación, se detallan los resultados obtenidos a partir de las sesiones grupales realizadas. Se parte de los materiales generados y lo discutido por los participantes al interactuar con el producto y los colores de los productos presentados durante las sesiones de trabajo.

7.3.1.1. Percepción del color verde esmeralda



Figura 22. Dibujos realizados por los participantes del *Focus Group* inspirados por el color verde esmeralda.

Los dibujos en general hacen referencia a la naturaleza, a lo natural. De esta forma en la Figura 22 se presentan árboles grandes, un personaje inspirado en el pasto, y hasta un personaje en una competencia “*outdoors*”. Estos dibujos, junto con otros realizados por los participantes, evocan a la naturaleza y elementos vegetales, como hojas y bosques. Así pues, se puede observar, cómo en el imaginario de los participantes, se encuentran elementos naturales que claramente refuerzan y ligan a este color como natural.

Cuando se les pidió a los participantes que relacionaran el color con palabras que les inspiraran, como se observa en la Figura 22, se mencionan palabras como “salud”, “deporte”, “natural”, “vegetación”. Además de estas palabras, otros participantes utilizaron palabras como “cosas nutritivas”, “bosque”, “llanura” entre otras. Los elementos acá escritos, hacen alusión a un estilo de vida saludable, al mencionarse la salud, deporte y “cosas nutritivas”, así como elementos naturales, como los bosques, llanuras y vegetación en general. De esta forma, se establece una relación entre ambos atributos, donde los elementos o productos saludables, pueden tener un origen natural y viceversa.

Por otro lado, en el *Focus Group* se pidió a los participantes relacionar este color con alimentos que conozcan, ya sea que les gusten o no. Entre los alimentos mencionados se encuentran: chayote, ensalada, espinacas, arúgula, ayote y batido verde (Figura 22). Otros alimentos mencionados son: lechuga, culantro, “*kale*”, sandía y guanábana. Los alimentos mencionados son vegetales de hoja en su mayoría, los cuales dependiendo de su preparación pueden tener perfiles amargos, salados o inclusive umamis.

Tomando en consideración lo anterior, los participantes mencionaron esperar en este jarabe sabores “neutros”, a “zacate dulce”, a “planta” e inclusive a “pez”, lo cual coincide con perfiles de sabor descritos para otras algas y microalgas (Matos *et al.*, 2022).

Una vez que se probó el jarabe de espirulina verde esmeralda, en sus aplicaciones respectivas, se obtuvo que el perfil del producto es “más ácido de lo que esperaban”. Además, el producto verde esmeralda presenta “cierta textura arenosa”, la cual viene de la precipitación de proteínas debida al proceso, por el cambio de pH y el tratamiento térmico sufrido. Por otro lado, se mencionó que la textura en general es “más fácil de manejar” en comparación con la del producto azul, lo que hace que sea mejor para algunos de los participantes.

Al presentarse a los participantes con la aplicación de una bebida (imagen presente en la guía del *Focus Group* Anexo 9.11), se menciona que la de verde esmeralda es más gustosa, que sí tiene el sabor esperado a “zacate”, pero que este sabor no es desagradable.

7.3.1.2. Percepción del color verde musgo



Figura 23. Dibujos realizados por los participantes del *Focus Group* inspirados por el color verde musgo.

En general se observa que el color verde musgo inspira dibujos con connotaciones negativas. Los participantes utilizan de manera consistente la palabra “desconocido” al momento de explicar los dibujos realizados en relación a este tono. En cuanto a los dibujos presentados en la Figura 23 uno de ellos es descrito como una mancha de lodo. Se puede notar que dicha mancha presenta una cara molesta, y facciones negativas. Por otro lado, otro de los dibujos hace alusión a aguas residuales, algo que se describe como no es placentero, que presenta un mal olor y es sucio, también representado visualmente por las moscas dibujadas alrededor. Por último, uno de los dibujos hace alusión a “manchas de distintos tamaños” y la figura a la derecha del dibujo es descrito como “un viejillo con anteojos”, haciendo alusión a la palabra “antiguo” expresado también en el mismo dibujo.

Los participantes tuvieron un poco más de dificultad al relacionar el color verde musgo con algún objeto u otro elemento que pudieran dibujar. Como parte de otros dibujos realizados, se mencionan plantas o figuras vegetales más “apagadas”, y figuras abstractas. Esto tiene relación con el adjetivo “extraño” o sus sinónimos utilizados por los participantes para describir el color. En términos generales, este no fue un color bien recibido, pues fue relacionado en parte, con palabras con alguna carga negativa. Se mencionó que este color hacía alusión a “malos olores”, “solitario”, “antiguo”, “sucio”, entre otros.

La mayoría de los participantes del *Focus Group* relacionaron el producto verde musgo con alimentos vegetales, entre ellos, “algas”, “espinaca pasada”, “paté”, “papilla de bebé”. Esto, junto con las palabras mencionadas en el párrafo anterior, da a entender que, aunque los participantes sí pueden relacionar este color con alimentos clasificados típicamente como natural, pero no necesariamente en su connotación positiva. Para ampliar lo anterior, se tomará en cuenta como ejemplo la relación que guardan ambos colores con la espinaca. Ambos colores, el verde esmeralda y verde musgo, son relacionados con este vegetal de hoja, sin embargo, mientras el color verde esmeralda es relacionado con la espinaca en su estado “natural” y “fresco” el color verde musgo es relacionado de igual forma con este vegetal, pero se le agrega la palabra “pasada”. Esto hace alusión al estado de descomposición, el cual debido al deterioro de la clorofila se expresa de manera característica como color verde musgo. Esta puede ser considerada una asociación negativa ya que, en otros

estudios, se ha reportado que señales del deterioro de frutas (y en este caso vegetales), son considerado desagradable por algunas personas (Siegrist & Hartmann, 2020).

Al momento de probar el jarabe de espirulina verde musgo, uno de los participantes mencionó que “por el color no le gustaría probarlo”, esta afirmación por parte del participante supone una barrera que predispone a resultados de agrado general poco favorables para este producto. Al interactuar con nuevos alimentos, las personas tienden a buscar pistas relacionadas a la presencia de patógenos (cómo hongos o moho) u otros agentes que podrían representar peligro. Por este motivo, coloraciones o apariencias extrañas podrían constituir señales cognitivas de alerta que influyen en la percepción de un alimento como desagradable (Hartmann & Siegrist, 2020). Este mismo pensamiento responde a las barreras que de forma consciente o inconscientemente, se ponen con tal de adaptarse y consumir los alimentos de mayor calidad posible (Hartmann & Siegrist, 2020).

Durante la sesión, se describió este producto con una “textura arenosa”, de la misma forma a como fue descrito el producto verde esmeralda, sin embargo, de acuerdo con los participantes en este prototipo se siente más, especialmente en aplicaciones como helado y yogurt (imagen presente en la guía del *Focus Group* Anexo 9.11), donde indican esta característica es altamente indeseable. Este efecto se debe a que el prototipo verde musgo ha sido sometido a un tratamiento térmico más severo, lo que produce una mayor afectación en las proteínas y pigmentos, los cuales precipitan, por lo que se percibe esa arenosidad.

7.3.1.3. Percepción del color azul



Figura 24. Dibujos realizados por los participantes del *Focus Group* inspirados por el color azul.

Para el color azul se interpretó de manera generalizada una relación con el agua. Los dibujos mostrados en la Figura 24 hacen referencia al agua como elemento central, una gota de agua, burbujas y corrientes. Al igual que con el color verde esmeralda, los participantes tienen muy claras las asociaciones que realizan al pensar en el color azul. De esta forma, en el imaginario existen asociaciones como “agua”, “calma”, “frescura”, “esperanza”, “alegría”, todos conceptos con connotación positiva

En este caso particular, la palabra frescura, representa una fuerte asociación, ya que ciertos productos alimenticios o cosméticos, como las pastas dentales o los enjuagues bucales con coloración azulada guardan una estrecha relación con la frescura producida por ingredientes como la menta (Spence, 2018).

Con respecto a la asociación “alegría”, una de las participantes menciona que esta es una asociación relacionada a los niños, tal y cómo se expresa en la frase expuesta abajo. Al encontrarse con nuevos estímulos, las personas recurren a memorias con tal de identificar si estos pueden o no ser de su agrado. Se ha demostrado que memorias relacionadas con la alimentación, que se tengan de la etapa de niñez se asocian a relaciones interpersonales, y rituales, así como a las emociones que estos despiertan (Fox & Alldred, 2019). En el caso de esta participante, se puede decir que este color aplicado en alimentos evoca un recuerdo de la niñez y a los momentos de alegría que sentía en esa etapa de su vida.

“-Lo asocio como a cosas de niños, como alegría... verdad.

Básicamente los alimentos que me recuerda y que he consumido con como los más, así como gomitas, y cosas más manufacturadas por decirlo de alguna forma”

Tomando en cuenta esta misma afirmación, se puede identificar la asociación del color azul con alimentos “manufacturados”, “dulces” y “artificiales”. Como parte de los ejemplos mencionados por los participantes de la sesión grupal, destacan “confites”, “gomitas”, “algodón de azúcar”, “bebidas energizantes”, entre otras. De manera complementaria a este resultado, al compararse los tres colores, los participantes acordaron que el color azul es el que perciben como el más “rico” y “dulce” de los tres. Dado lo anterior, es posible identificar una relación entre estos dos atributos, y los productos procesados mencionados anteriormente.

Se han encontrado en diferentes estudios, que hay una creencia en que los productos con una alta cantidad de aditivos, entre estos los colores, pueden ser dañinos para la salud. Los productos “artificiales” y “manufacturados”, pueden representar un riesgo para los consumidores al no conocer los aspectos regulatorios de aditivos y procesos de manufactura, esto a su vez, genera que los consumidores sobreestimen las inseguridades asociadas a los alimentos “manufacturados” (Bearth *et al.*, 2014). De esta forma, en el imaginario de algunos consumidores se puede generar una resistencia por consumir alimentos que se consideran “artificiales”. Lo cual se ve potenciado por los medios de comunicación, redes y otros tipos de comunicación de masas, los cuales permiten esparcir información falsa de forma sencilla (Szucs, 2014). En el caso de los colores considerados artificiales, hay una creencia que estos son innecesarios, por lo que los consumidores al ver el beneficio únicamente para las empresas que manufacturan alimentos, tienen una mayor resistencia, pues no consideran que haya un beneficio asociado a su consumo (Bearth *et al.*, 2014).

El color azul, por tanto, genera contradicción en el consumidor. Por un lado, desde lo no racionalizado y lo sensorial, los participantes se pueden decantar por querer un alimento que genera placer, evoca a la niñez, a la alegría y los sentimientos positivos que esto despierta. En contraste, un componente racional del consumidor puede mencionar las características no positivas que puede tener el alimento, mencionando que sea “manufacturado” o “artificial”. Por lo que se genera un conflicto en el consumidor, entre la motivación visceral y la racional, al momento de tomar la decisión sobre si quiere o no probar este alimento.

Intrínsecamente, el color azul, es asociado positivamente al agua, uno de los elementos más naturales que hay, sin embargo, al asociarlo con alimentos, se piensa en productos procesados o artificiales, poco saludables o naturales, pero que evocan fuertes sentimientos de alegría asociados a la niñez. En este ejemplo, es posible ver la contraposición de valores altamente importantes para el consumidor, por tanto, no es posible ser conclusivos acerca de una perspectiva positiva o negativa asociada a este color en los alimentos.

En algunos estudios se ha reportado que el color azul en alimentos disminuye qué tan propenso esté el consumidor a probar dicho alimento (Schlidl & Schienle, 2020), este refiere a colorantes artificiales, y aunque esto no se percibe como particularmente malo, hace que

las personas no quieran comer tanto de estos productos. Durante la sesión grupal, algunas personas mostraron dificultad para probar el jarabe azul, inclusive uno de los participantes accedió debido a la motivación de los demás, de lo contrario no hubiera sucedido, pues no quería probarlo basado únicamente en el color. El color azul en los alimentos puede ser relacionado con la presencia de mohos u otro tipo de señales que indican cuando un alimento ya no se encuentra en su estado óptimo (Spence, 2021). De esta forma se ilustra cómo el disgusto por un alimento, o la disposición a no probarlo funcionan como un impulso subconsciente del sistema inmune que previene el consumo de alimentos potencialmente peligrosos (Tuorila & Hartmann, 2020). Una vez que se probó el jarabe de espirulina azul, este no fue el descrito como el producto más gustado durante la sesión grupal, ni durante la evaluación cuantitativa con consumidores. Algunos participantes mencionaron que el sabor del prototipo azul es agradable e inclusive “neutro”, sobre todo al aplicarse en yogurt y helado. En contraste, otros participantes percibieron un “sabor químico residual”, otro describió el producto azul con un “sabor extraño”, el cual no pudo descifrar, y se describió que el producto azul aplicado en una bebida “no gusta”. De esta forma, se pueden observar las opiniones divididas que se tienen, y cómo el producto azul funciona dependiendo de la aplicación en la que se consuma. Además de esto, en cuanto a su textura, se describió como “más uniforme”, y como si fuera “una jalea”, lo cual para algunos participantes esto era deseable, y para otros no.

En relación con la aplicación como “*topping*” de helado particularmente, una de las participantes mencionó que el jarabe helado “no tiene un mal sabor”, y que es una forma “divertida” de consumirlo.

“-Ya que voy a consumir alga, al menos que sea divertido hacerlo”

Tomando en cuenta esta frase, se pueden destacar dos puntos interesantes. En primer lugar, para algunos participantes, el consumo de algas no es percibido de forma positiva. En un estudio cualitativo con 34 participantes, se encontró que el consumo de alimentos con contenido de algas sigue pareciendo algo nuevo, y que en algunos casos no hay una gran voluntad por probar estos alimentos, sobre todo debido a la expectativa de baja “comestibilidad” que hay referente a las algas en el imaginario de las personas (Mellor *et al.*, 2022). En este caso particular, la participante del *Focus Group* demuestra una actitud

resistente y de resignación, resultado de sus bajas expectativas, las cuales podrían, según ella, ser contrarrestadas por otros valores asociados al producto, como lo es la diversión.

El otro punto importante a destacar es justamente, la connotación positiva del color azul asociado a la diversión, lo cual, podría transformar una experiencia de consumo que se espera sea desagradable, en una un poco más placentera. Esto se refuerza en asociaciones mencionadas anteriormente como “alegría” o “niños”, donde se destaca que este color en particular genera una sensación de bienestar general en los participantes. En este ejemplo, es posible observar cómo, en casos donde los alimentos generan bajas expectativas sensoriales, se traslada el peso de la intención de consumo a otros aspectos y valores secundarios que pueda ofrecer el producto.

Por último, cabe mencionar que, al consultarles a los participantes de la sesión grupal, cuál de los tres colores es el favorito, en la mayoría de los casos se eligió el color azul. En contraste, cuando se les pidió que eligieran el color favorito, pero específicamente en alimentos, el *Focus Group* eligió el verde esmeralda en la mayoría de los casos. Esto es un indicador de que la percepción del color varía dependiendo de su aplicación y contexto, por tanto, un específico color no significa lo mismo cuando se aplica en un objeto o cuando se aplica en un alimento. Los alimentos tienen sus propios criterios de lo que es aceptado y gustado y lo que no, en términos de los colores, haciendo referencia normalmente a la familiaridad de las personas con los productos, y los sistemas de alerta que se generan de manera inconsciente. Aunque una persona guste de algún color o textura, este puede ser indeseable en alimentos y viceversa. Los alimentos se tienen que evaluar siempre de forma global, como un todo, incluyendo todas sus características intrínsecas, de esta manera es cómo son evaluados por los consumidores. Aunque sea de manera inconsciente el color forma una parte importante de la percepción del alimento, y generación de expectativas, pero no se puede separar de las otras características que completan el alimento.

7.3.3. Análisis del efecto de la familiaridad

Los resultados de la prueba de Chi Cuadrado, presentados en el cuadro a continuación, indican la relación que pueda haber entre la familiaridad con el producto, y la frecuencia con la cual cada uno de los productos fue seleccionado como el que mejor cumple cada uno de

los cinco atributos analizados (saludable, natural, dulce, ácido y rico) utilizando solamente el criterio de evaluación de apariencia.

Cuadro XL. Valores de p calculado del análisis de Chi Cuadrado, para la determinación de la correlación entre la familiaridad con el producto, y la forma de percibir cada uno de los productos como el que mejor cumple cada uno de los atributos analizados: saludable, natural, dulce, ácido y rico.

Categoría	Valor de p calculado
Saludable	0.138
Natural	0.465
Dulce	0.198
Ácido	0.518
Rico	0.655

Tal y como se observa en el Cuadro XL, en ninguno de los casos el valor de p calculado es menor que el valor de $\alpha = 0.05$. Esto lleva a que se concluya que en ninguno de los casos se encuentra relación directa entre el nivel de familiaridad con el producto, y la forma cómo los consumidores perciben el color del prototipo. Dicho de otra manera, independientemente de si las personas se encuentran familiarizadas o no con el consumo de espirulina, esto no influye en que un determinado color se perciba como el más saludable, natural, dulce, ácido o rico.

De una forma exploratoria, se presentan los Cuadros XLI y XLII, en los cuales se hace un recuento de la frecuencia en la cual los prototipos fueron seleccionados como el que mejor o peor cumplía con los atributos analizados, tanto por el grupo familiarizado, como por el grupo no familiarizado

Cuadro XLI. Frecuencias porcentuales en las cuales los participantes del panel seleccionaron cada uno de los prototipos como el que mejor cumple con cada una de las características estudiadas.

Categoría	Verde esmeralda		Azul		Verde musgo	
Saludable	63.46%	44.00%				
Natural	50.00%				57.59%	
Dulce			92.31%	80.77%		
Ácido		42.31%	40.38%			
Rico			71.15%	63.46%		

- a. Los cuadros en azul representan al grupo de personas familiarizadas y los cuadros naranjas representan al grupo de personas no familiarizadas.

Cuadro XLII. Frecuencias porcentuales en las cuales los participantes del panel seleccionaron cada uno de los prototipos cómo el que peor cumple con cada una de las características estudiadas.

Categoría	Verde esmeralda		Azul		Verde musgo	
Saludable			75.00%	62.00%		
Natural			94.23%	94.23%		
Dulce					63.46%	53.85%
Ácido			51.92%	53.85%		
Rico	67.31%	59.62%				

- b. Los cuadros en azul representan al grupo de personas familiarizadas y los cuadros naranjas representan al grupo de personas no familiarizadas.

Al analizar ambos cuadros (Cuadro XLI y XLII), se puede notar que las respuestas de ambos grupos, familiarizados y no familiarizados, son muy similares entre sí. Al momento de elegir el producto que mejor cumple con los atributos analizados, se encuentran coincidencias entre ambos grupos para los atributos saludable, dulce y rico.

En los atributos natural y ácido se encuentran diferencias entre ambos grupos, a la hora de seleccionar el producto que mejor cumpla con cada uno de los atributos. De esta forma, el 50% de los participantes que se encuentran familiarizados con la espirulina,

seleccionaron el producto verde esmeralda como el más natural, mientras que el grupo de los no familiarizados seleccionó el producto verde musgo como el más natural en el 57.59 % de las veces. La diferencia entre estos dos porcentajes radica en que el grupo de personas familiarizadas conocen, a través de otras experiencias el color de la espirulina, y cómo esta se ve, por lo que es más sencillo reconocer ese color como el más natural. La detección de estímulos nuevos está altamente relacionada con la memoria, ya que requiere una comparación entre eventos y representaciones encontrados en la memoria. Si el evento nuevo se relaciona con un recuerdo, este nuevo estímulo es considerado como reconocible (Cycowicz, 2019). Palabras como “natural”, “naturaleza”, “hojas” y otros elementos similares, fueron utilizados por los participantes durante el *Focus Group* para describir las asociaciones primarias que se presentan con el producto de color verde esmeralda, siendo estos elementos guardados en su memoria, los que relacionan con el nuevo estímulo del color del producto, haciendo que este fuera reconocible.

En contraste, el color verde musgo, es percibido como el más natural por el grupo de personas no familiarizadas, justamente porque no conocen la espirulina y su apariencia. Para productos nuevos, las expectativas pueden ser moldeadas, ya que los consumidores no saben qué esperar (Tuorila & Hartmann; 2020). Las algas tienen un amplio espectro de coloraciones, entre ellos colores verdosos, pardos rojizos entre otros (Lecaro-Zambrano & Garzón-Montealegre; 2021). Parte de los participantes no familiarizados del *Focus Group* utilizaron la palabra “alga” para describir una asociación primaria que tuvieron al ver el tono verde musgo por primera vez. De esta forma, se evidencia cómo las personas no familiarizadas con la espirulina, recurren a otras relaciones para identificar cuál de los productos es más natural. Este grupo debe asociar este atributo con coloraciones de algas que conozcan o hayan visto de alguna forma previamente, por lo que dentro de las posibilidades cabe que la relacionen con algas pardas o con tonalidades similares al verde musgo, haciendo así que este sea el tono más natural para un jarabe de microalga.

En cuanto al atributo ácido, los participantes familiarizados seleccionaron el producto azul como el más ácido en un 40.38% de las veces, mientras que los no familiarizados seleccionaron al producto verde esmeralda como el más ácido en un 42.31% de las veces. De forma preliminar, se puede decir que en ambos grupos tienen opiniones divididas sobre cuál

es el prototipo que mejor cumple este atributo, pues en ninguno de los casos se llega a la mitad de los participantes seleccionando el mismo producto como el más ácido. Esto es debido a que los alimentos ácidos, no presentan algún color en específico. Los consumidores familiarizados, al verse enfrentados ante el atributo ácido, el cual no es característico de la espirulina, no tienen una referencia clara de cuál debería ser el producto más ácido basándose únicamente en el color. En términos generales, las algas se relacionan con sabores umami y salado, así como sensaciones a grasa y nuez, el sabor ácido, por tanto, no es característico (Matos *et al.*, 2022). Por su parte, los participantes no familiarizados, de la misma forma que los familiarizados, recurren a recuerdos u otros productos ácidos con los que sí se encuentren familiarizados, para determinar cuál de estos se asemeja más en color, a los productos que se les presentó.

En cuanto al Cuadro XL, en el caso de los atributos saludable, dulce y rico ambos grupos coinciden en cuáles son los productos que, en apariencia, cumplen menos con estos atributos. Los participantes del grupo de familiarizados seleccionaron los productos: azul, verde musgo y verde esmeralda, de forma respectiva. Esto ocurre en un mayor porcentaje de respuestas que las dadas por los participantes del grupo no familiarizados. Por otro lado, en el atributo natural, ambos grupos coinciden que el producto que parece ser el menos natural es el azul, ambos en un 94.23% de las veces. Por último, en cuanto al atributo ácido, aunque ambos grupos de participantes dan la misma respuesta, donde encuentran al producto menos ácido es el azul, el grupo de participantes no familiarizados lo hace en un mayor porcentaje de veces.

Esta diferencia en el porcentaje de respuestas para ambos grupos denota que, aunque ambos grupos califican de una forma muy similar el prototipo que mejor o peor cumple cada uno de los atributos analizados, podrían existir leves diferencias entre ambos grupos en la capacidad que tienen de percibir entre los tres colores para cada uno de los atributos analizados. Debido a esto, se estudian los datos presentados en el Cuadro XLI, resultantes del análisis de Friedman, con los cuales se trata de comprender si existe una diferencia significativa en la forma en la que se percibe el color, considerando cada uno de los atributos planteados, tanto para el grupo familiarizado, como para el no familiarizado.

Cuadro XLIII. Valores de p calculado de la prueba de Friedman para cada uno de los atributos evaluados, con el fin de determinar si existe una diferencia en el orden en el cual los prototipos (variables en color) fueron percibidos.

Categoría	Valor p calculado para el grupo familiarizado	Valor p calculado para el grupo no familiarizado
Saludable	<0.0001	0.007
Natural	<0.0001	<0.0001
Dulce	<0.0001	<0.0001
Ácido	0.298	0.049
Rico	<0.0001	<0.0001

- Se muestran en negrita los valores de p que indican un efecto significativo del color sobre la percepción de cada uno de los atributos.

Tal y como se observa en el Cuadro XLIII, la mayoría de los valores de p calculados en el análisis de Friedman, al ser menores al valor de $\alpha=0.05$, indican que el color del prototipo influencia el ordenamiento realizado por los participantes para cada uno de los atributos analizados.

Únicamente no se encuentra diferencia en un caso, el cual corresponde al análisis realizado por el grupo de participantes familiarizados para el atributo ácido. Este grupo, de familiarizados no logra percibir una influencia del color en su percepción del atributo ácido. En contraste, los participantes no familiarizados sí se ven influenciados por el color en este atributo, sin embargo, este efecto es apenas significativo.

Para determinar el orden en el cual fueron calificados cada uno de los productos, se debe recordar que los valores menores indican cuál es el producto que mejor cumple con el atributo, y valores mayores indican cuál es el producto que peor cumple con el atributo. El orden en el cual fueron calificados los productos, está influenciado por las expectativas y relaciones que generan los consumidores entre el color que observan, y otros alimentos que hayan visto en el pasado.

Cuadro XLIV. Resultado de la prueba de comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi, para los dos grupos de consumidores al estudiar el efecto del color sobre la percepción de los productos tomando en cuenta el atributo saludable.

Muestra	Media de rangos del grupo familiarizado	Media de rangos del grupo no familiarizado
Verde esmeralda	1.442 ^a	1.721 ^a
Verde musgo	1.962 ^b	1.952 ^{ab}
Azul	2.596 ^c	2.327 ^b

*Las letras distintas en acompañando a los números, indican efectos de los colores significativamente distintos, sobre la percepción del atributo saludable.

Al observar el Cuadro XLIV, se puede notar que el grupo de personas familiarizadas perciben una mayor influencia del color sobre su percepción del atributo saludable para los tres productos analizados. Estos pueden decir de forma clara cuál de los tres productos es el más saludable, cuál es el menos saludable, y cuál de los tres es el saludable medio, basándose únicamente en la observación del color del producto. Los participantes familiarizados, por su recuerdo de otras experiencias con la espirulina se ven más influenciados por los colores de los tres productos al percibir el atributo saludable. En contraste, el grupo de personas no familiarizadas tienen un problema a la hora de calificar el producto verde musgo. Este grupo coincide con el grupo de los familiarizados en que el producto verde esmeralda y el producto azul son los más y menos saludables respectivamente. Sin embargo, a la hora de calificar al producto verde musgo, lo colocan tanto en la categoría del más saludable, así como en la del menos saludable. La diferencia se debe a que los participantes familiarizados, al conocer la espirulina y su apariencia, pueden discriminar entre los tres productos y decir cuál de los tres se parece más, en color, a la espirulina que conocen. En contraste, las personas no familiarizadas no cuentan con este recurso, y por ende no hacen distinción entre los productos verde musgo y verde esmeralda, pues ambos parecen ser los que mejor se relacionan con el producto y el atributo saludable.

Reforzando los hallazgos de esta prueba de ordenamiento, para el atributo saludable, participantes del *Focus Group* mencionaron alimentos como frutas, vegetales, e inclusive otro tipo de algas para referirse al producto verde esmeralda, percibiendo así este color como

el más nutritivo y saludable de los tres. En contraste, el producto verde musgo fue descrito como “desconocido” y “extraño” por parte de los participantes, lo que evidencia la poca capacidad de distinción que los mismos tenían al calificarlo.

Según lo que se observa en el Cuadro XLIV, el jarabe azul es el que se percibe como el color menos saludable de todos. En estudios realizados donde se estudia el efecto del color sobre la percepción de sabores, se ha determinado que, para un panel de 205 participantes, de los colores evaluados, el azul es el percibido como el menos saludable (65%), mientras que el segundo menos saludable fue el verde con un 16% (Hoppu *et al.*, 2018). En estudios realizados donde se analiza el efecto de la coloración del empaque de los alimentos sobre la percepción las características saludables, se ha determinado que coloraciones más saturadas hacen que se perciban menos saludables que los empaques con coloraciones menos saturadas (Mead & Richerson, 2018). En el caso de los productos analizados, no se contaba con la ayuda visual del empaque, sin embargo, el producto azul presenta una coloración más intensa que sus contrapartes con coloraciones verdes. Además de esto, en el *Focus Group*, los alimentos azules se relacionaron con productos procesados, altas cantidades de azúcares añadidos y otros ingredientes que no son considerados saludables por parte de los consumidores. Como parte del surgimiento de etiquetas limpias, estos productos no son considerados saludables, y son menos buscados por los consumidores, por lo que los productos de coloración azul son calificados de mala manera en este atributo. Es por esto, que, al evaluarse un producto de coloración azul en este ordenamiento, es reconocido como el menos saludable por parte de ambos grupos de participantes.

Cuadro XLV. Resultado de la prueba de comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi, para los dos grupos de consumidores al estudiar el efecto del color sobre la percepción de los productos tomando en cuenta el atributo natural.

Muestra	Media de rangos del grupo familiarizado	Media de rangos del grupo no familiarizado
Verde esmeralda	1.519 ^a	1.615 ^a
Verde musgo	1.577 ^a	1.471 ^a
Azul	2.904 ^b	2.913 ^b

*Las letras distintas en acompañando a los números, indican efectos de los colores significativamente distintos, sobre la percepción del atributo natural.

De una forma muy similar, los participantes de ambos grupos seleccionaron cuáles son los productos que le parecen más y menos naturales. En ninguno de los dos grupos se encuentran diferencias significativas en la influencia que tienen los colores verde esmeralda y verde musgo, sobre la percepción del atributo “natural”. El grupo de personas familiarizadas, aunque conocen con anterioridad la espirulina, no discriminan si un producto es más o menos natural que el producto verde musgo, siendo los valores de sus medias casi iguales. Por otro lado, los participantes no familiarizados, encuentran una mayor diferencia entre la influencia de ambos colores, sin embargo, esta no es suficiente como para ser significativa. El atributo natural es altamente relacionado con productos vegetales, hojas u otro tipo de vegetaciones. Estos son objetos ligados a coloraciones verdes, independientemente que sean tonalidades musgo o esmeralda, pues ambos grupos califican igual la influencia de estos colores sobre la percepción del atributo.

En cuanto al producto azul, se observa que ambos grupos encuentran a este producto claramente como el menos natural de los tres, influenciados por el color del mismo. Para explicar este fenómeno, se puede ver la siguiente interacción extraída del *Focus Group*.

Participante 1: “-Cuando veo el producto azul, lo asocio mucho a la pintura, como que tiene mucho colorante”

Moderadora: “-¿Y eso lo asocias a algo bueno o algo malo?”

Participante 1: “-Siento que la asocio como que es algo que lo puedo comer, pero en dosis pequeñas”

De esta forma, al observar el extracto anterior, se puede notar cómo el participante asocia el color azul del producto, con la presencia de colorantes en la formulación. Si bien es cierto, en el caso particular del participante, esto no supone una barrera para consumir el producto, sí puede ser un impedimento para consumirlo en cantidades altas para algún otro participante.

Este mismo razonamiento pudo ser seguido por el panel, pues de manera natural, los pigmentos en alimentos dan tonalidades verdes con la clorofila, amarillo-rojizas con los

carotenoides, rojo-violeta con las betalaínas, y los más cercanos a tonalidades azuladas son los frutos como los arándanos con tonalidades violeta oscuro, dados por las antocianinas (Rodríguez-Amaya, 2016). Sin embargo, no se encuentran pigmentaciones azuladas de manera común en productos vegetales. Se han destinado muchos esfuerzos a investigar pigmentos en tejidos vegetales, animales e incluso microbiológicos con coloración azul, sin embargo, los metabolitos con coloración azul son relativamente escasos en comparación a metabolitos con otras coloraciones (Newsome *et al.*, 2014). Por otra parte, se han estudiado los hábitos de consumo de personas, analizando el porcentaje de colores específicos en los platos que comen de manera regular. Se ha encontrado que la coloración azul se encuentra en el 12.4% de los platos, mientras que coloraciones como naranja-amarillo, y verde se presentan en un mayor porcentaje con 83.7% y 61.2% respectivamente (Köning & Renner, 2018). Esto ejemplifica la poca variedad de pigmentaciones azuladas en los alimentos que se consumen de manera diaria. Es por esto, que la muestra de participantes analizada tuvo dificultades en relacionar el color azul como algo natural en alimentos, y se les facilita colocar el alimento de esta coloración como el menos natural de los tres analizados.

Cuadro XLVI. Resultado de la prueba de comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi, para los dos grupos de consumidores al estudiar el efecto del color sobre la percepción de los productos tomando en cuenta el atributo dulce.

Muestra	Media de rangos del grupo familiarizado	Media de rangos del grupo no familiarizado
Verde Esmeralda	2.269 ^a	2.192 ^a
Verde Musgo	2.596 ^a	2.500 ^a
Azul	1.135 ^b	1.308 ^b

*Las letras distintas en acompañando a los números, indican efectos de los colores significativamente distintos, sobre la percepción del atributo dulce.

Al observar los resultados expresados en el Cuadro XLVI, se puede notar cómo la influencia de los colores, para el atributo dulce, cambia totalmente, en comparación con los dos atributos explorados anteriormente (saludable y natural). De igual manera que con el atributo natural, ambos grupos coinciden que los productos verdes esmeralda, y verde musgo, pertenecen a la misma categoría, en este caso de los productos menos dulces. Por el contrario,

el producto azul, se diferencia, de acuerdo con ambos grupos, cómo el producto que aparenta ser el más dulce de los tres. Este mismo resultado es corroborado por los participantes del *Focus Group*, cuales quienes indicaron en su mayoría, que este era el producto que aparentaba ser el más dulce.

Como se mencionó con anterioridad, los alimentos con los cuales los participantes del *Focus Group* relacionaron el color azul, en su mayoría tienen un alto contenido de azúcar. Se ha determinado en estudios donde se analiza con un panel de 452 personas las relaciones que se generan entre los colores y formas, y la percepción de los sabores, que el color azul es altamente relacionado con el sabor dulce, en comparación con otros colores como verde, amarillo o naranja (Wan *et al.*, 2014). Se mencionaron en el *Focus Group* productos como “confites”, “algodón de azúcar”, “bebidas energizantes” y otro tipo de bebidas comerciales, como productos con los cuales los participantes relacionan el color azul, todos productos con un alto contenido de azúcar. De esta forma, las personas recuerdan productos de colores similares consumidos con anterioridad, los cuales en su mayoría comparten la característica de dulzor entre ellos. Se menciona también, que, en la cultura occidental, ha habido un creciente aumento de la relación entre coloraciones azules (*electric blue*) y el sabor dulce a frambuesa (Shankar *et al.*, 2010). Por la realidad y el contexto en los que se desenvuelven los participantes del panel, esta influencia del color y el sabor dulce a frambuesa ejemplifica el efecto de cómo se percibe este color en alimentos. Por esta razón, es sencillo para ambos grupos de participantes colocar el producto de este color como el más dulce de los tres.

Con respecto a los otros productos, aunque los grupos coinciden en que no hay diferencia significativa en el efecto generado por el color sobre la percepción del atributo dulce, ambos grupos también coinciden que el color verde musgo aparenta ser menos dulce. Aunque los colores de ambos productos son similares, de acuerdo con el análisis de color estos son muy oscuros con valores del parámetro L^* de 7.460 para el verde esmeralda y 7.287 para el verde musgo. Esto mismo es corroborado por los participantes del *Focus Group*, quienes coinciden en que los productos fueron “más oscuros de lo esperado”, y a algunos les costó encontrar la diferencia entre los colores de los productos verdes, hasta que pudieron manipularlos. De manera típica, las tonalidades oscuras como la negra en alimentos es relacionada con otro atributo distinto, el amargor (Wan *et al.*, 2014). En productos como el

café, té, cerveza o chocolate, donde las tonalidades oscuras se relacionan con el amargor de la bebida, se espera este como un atributo deseable, en la mayoría de los casos. En contraste, al tratarse de un producto como un jarabe, este no suele ser oscuro, por lo que los participantes, en lugar de relacionarlo con algo dulce, exploran en sus relaciones con otros alimentos o productos similares, y lo clasifican de manera distinta. Cabe aclarar que existe una excepción a esto, en el caso de los jarabes de chocolate, que aunque son oscuros sí son percibidos como dulces. En este caso, es un producto muy identificado, y que tiene un perfil esperado muy específico, el cual los consumidores ya tienen integrado a su imaginario.

Por su parte, una de las participantes del *Focus Group*, comentó que los productos de coloración verde esmeralda le recordaban a una “medicina para la gastritis”, la cual no era dulce ni agradable al paladar, por lo que ella en específico no calificó como dulce a estos productos. Además, otras asociaciones realizadas con el producto color verde musgo, fueron “aguas residuales” o “cosas podridas”, las cuales no son particularmente dulces. Un razonamiento similar pudo ser utilizado por otros participantes a la hora de encontrarse con estos productos.

Cuadro XLVII. Resultado de la prueba de comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi, para los dos grupos de consumidores al estudiar el efecto del color sobre la percepción de los productos tomando en cuenta el atributo ácido.

Muestra	Media de rangos del grupo familiarizado	Media de rangos del grupo no familiarizado
Verde esmeralda	1.827	1.750 ^a
Verde musgo	2.058	2.019 ^{ab}
Azul	2.115	2.231 ^b

*Las letras distintas en acompañando a los números, indican efectos de los colores significativamente distintos, sobre la percepción del atributo ácido.

El Cuadro XLV, muestra un comportamiento muy distinto de ambos grupos. En primer lugar, para el grupo de familiarizados, no se encuentra una influencia significativa del color, sobre la percepción del atributo “ácido”. Este grupo se enfrenta a un atributo el cual no es típico de la espirulina, todo lo contrario, esta de forma típica no suele ser ácida. Se han establecido, perfiles de sabor para varias microalgas donde únicamente se contemplan los

sabores umami, amargo, salado y dulce (Coleman *et al.*, 2022). Esto habla de la falta del atributo acidez encontrada de forma típica en las microalgas. Es por esto que el grupo de participantes familiarizados presenta una confusión cuando se le pregunta por un atributo que ellos no reconocen en el producto tal y como lo recuerdan. Es posible que al presentarse con un estímulo que recuerdan, pero al consultárseles por una característica de este estímulo que no reconozcan, se genere una contraposición al momento de calificarlo. De esta forma, deben recurrir a otros recuerdos de productos que cumplan con este atributo de acidez, y relacionaran esos otros alimentos, con los colores que se le presentan en la bandeja. Esto se ve reflejado en la manera cómo no se encuentra una diferencia significativa entre el efecto de cada uno de los colores sobre la percepción del atributo ácido, para este grupo de participantes.

De forma natural, la acidez percibida en los alimentos se debe a la interacción de los ácidos orgánicos presentes en su composición (Shi *et al.*, 2022). Se puede contar con ácido cítrico en productos como naranjas o limones, ácido málico en manzanas y duraznos o ácido tartárico en uvas (Shi *et al.*, 2022). Los alimentos, son una matriz compleja, por lo que típicamente la acidez en productos naturales está dada por la combinación de dos o varios de estos ácidos orgánicos. Al observar los ejemplos dados, se puede notar cómo estos tienen coloraciones muy variadas, hay productos naranjas, verdes, amarillos, rojos y morados, en distintas tonalidades. Estas tonalidades son debidas a los distintos pigmentos que se encuentran en los alimentos, clorofila, carotenoides, betalaínas entre otros (Rodríguez-Amaya, 2016). Es debido a esto, que no suele haber una relación directa entre el color y la acidez del producto, pues los productos ácidos suelen ser de distintos colores y tonalidades. Por ejemplo, de acuerdo con este panel para el grupo de participantes familiarizados, el hecho que un producto sea verde no es un indicador directo de que este sea ácido, pues hay productos ácidos de otros colores, sin embargo, un producto azul tiene que ser dulce, ya que los otros productos dulces que conocen los panelistas tienen este atributo muy presente.

Por su parte, el grupo de participantes no familiarizados sí encuentra una diferencia significativa, sin embargo, esta diferencia en la influencia del color sobre el atributo ácido significativa por poco, pues el valor de p (Cuadro XLIII) es 0,049 apenas 0.001 menor que el valor de $\alpha= 0.05$. Esto indica, que el grupo de consumidores no familiarizados, sí se ve

influenciado por el color, a la hora de elegir un producto ácido, pero esto es apenas significativo. La elección del color verde esmeralda, como el más ácido, está relacionado, en parte, por lo explicado anteriormente. Aunque la paleta de colores de alimentos ácidos es muy amplia, estos si tienen tonos verdosos dentro de los alimentos que son considerados ácidos, mientras que no hay tantos productos alimenticios con coloraciones azules en el imaginario de las personas con esta característica. De esta forma, al pedirle a los participantes del grupo no familiarizado que indiquen el orden de los productos del más a menos ácido, ellos colocan el verde esmeralda como el más ácido, no porque este sea un color que se relacione directamente con la acidez de los productos, sino porque este es el color que es más probable encontrar dentro de la gama de productos ácidos. Se ha reportado en diversos estudios que los colores verde y amarillo son los que en su mayoría se relacionan con el sabor ácido (Wan *et al.*, 2014; Hoppu *et al.*, 2018), en contraste, el color azul es denominado como dentro de los colores menos ácidos (Hoppu *et al.*, 2018). Por otro lado, en un estudio realizado con anterioridad, se demostró que, al colocar colorante verde en soluciones distintas, se ve una disminución en el umbral de percepción del sabor ácido (Maga, 1974; Sapence, 2015). Esta disminución del umbral indica que se requiere menor cantidad de ácido para que este sea detectado o se perciba un cambio de este atributo. Por esto se puede decir que el color verde aumenta la percepción del sabor ácido, lo que consecuentemente disminuye el umbral para este sabor. En contraste, el producto azul, no es colocado en esta categoría como el más ácido, pues no es un color comúnmente encontrado en la naturaleza, y de forma artificial es más relacionado con el atributo dulce, cómo se vio anteriormente.

Cuadro XLVIII. Resultado de la prueba de comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi, para los dos grupos de consumidores al estudiar el efecto del color sobre la percepción de los productos tomando en cuenta el atributo rico.

Muestra	Media de rangos del grupo familiarizado	Media de rangos del grupo no familiarizado
Verde esmeralda	1.981 ^a	1.942 ^a
Verde musgo	2.596 ^b	2.519 ^b
Azul	1.423 ^c	1.538 ^a

*Las letras distintas en acompañando a los números, indican efectos de los colores significativamente distintos, sobre la percepción del atributo rico.

De acuerdo con lo que se expresa en el Cuadro XLVIII, hay una diferencia en cómo ambos grupos de participantes se ven influenciados por los colores de los productos para determinar cuál aparentaría ser el más “rico”. Al igual que el atributo saludable, el grupo de personas familiarizadas se ven influenciadas por los tres colores al momento de determinar cuál es el producto más rico. El grupo de consumidores familiarizados logra determinar tres categorías distintas, donde clasifica un solo producto en cada una de las categorías. Recurren a recuerdos de interacciones anteriores con la espirulina para determinar cuál prototipo puede ser el más rico. De esta forma, el grupo de familiarizados determina que el producto más rico aparenta ser el azul, seguido por el verde esmeralda, y por último el producto verde musgo. En este caso, se seleccionó el producto con coloración distinta a la versión más accesible de la espirulina. Lo que habla que las personas al reconocer el color de la espirulina comercial en otros productos eligen como al más rico el producto con menor similitud al producto conocido.

Observando las interacciones de los distintos atributos, y cómo el grupo de participantes familiarizados clasificaron los productos, se puede determinar que tres de los cuatro atributos mencionados anteriormente: “rico”, “natural” y “saludable”, guardan una relación con la percepción del atributo rico. Se nota cómo claramente, el producto considerado más dulce, el azul, es de igual forma el considerado más rico. De esta forma se puede determinar que para este grupo de participantes el hecho que un producto sea dulce hace que este sea rico también.

En contraste, el grupo de participantes no familiarizados, aunque sí percibe una diferencia significativa de la influencia del color sobre el atributo rico, solamente logra colocar los productos en dos categorías distintas. En primer lugar, se encuentran el producto azul y el verde esmeralda, y en segundo lugar el producto verde musgo. Por su parte, el grupo de personas no familiarizadas con la espirulina, no tiene el sesgo generado por experiencias anteriores con la materia prima. Aunque los productos color azul y verde esmeralda tienen el mismo efecto sobre la percepción del atributo rico, de acuerdo con el valor calculado por el método de Nemenyi, los valores indican que el producto azul es considerado más rico,

aunque la diferencia entre estos dos no sea significativa. Este mismo producto es considerado el más dulce y el menos ácido, natural y saludable. Para el grupo de participantes no familiarizados, se espera que para que el producto cumpla con la apreciación de ser “rico” este debe ser dulce, y no ser tan ácido, ni natural, ni saludable. Por el contrario, al encontrarse con productos que aparentan ser más ácidos, naturales o saludables, esperan que no sean lo suficientemente ricos. Basado en los hallazgos del *Focus Group*, se reportan experiencias anteriores relacionadas al color azul con productos como confites o bebidas procesadas, mientras que los colores verdes, son más relacionados con vegetales o productos similares. Con base en el efecto que tiene el color sobre la percepción del atributo dulce, se puede mencionar que productos como dulces o bebidas procesadas podrían considerarse como más ricos que productos vegetales como las frutas y verduras. Por último, el prototipo verde musgo es clasificado como el menos rico de los tres; esta diferencia significativa, además de deberse a lo mencionado anteriormente, también podría ser causada por la poca familiaridad del grupo con este color. Los participantes ven un producto con este color como algo “extraño”, “desconocido” o hasta “sucio”, lo que genera que su percepción, para este atributo, sea negativa.

7.3.4. Análisis de la expectativa de los participantes

Finalmente, se presenta en el Cuadro XIL los valores de agrado general encontrados por ambos grupos de participantes, para cada uno de los productos. Estos valores de agrado general se contrastan con las expectativas generadas por los consumidores al momento de evaluar cada uno de los productos de manera visual basándose únicamente en el color del producto.

Cuadro XII. Perfil esperado por los participantes familiarizados y no familiarizados con la espirulina, y el valor de agrado general dado por cada uno de los grupos para cada producto analizado una vez que se realizó la degustación sensorial.

Prototipo	Perfil esperado	Valor de agrado general																		
Verde esmeralda	<p>Perfil esperado para el producto verde esmeralda</p> <p>Legend: Familiarizado (Green line), No Familiarizado (Orange line)</p> <table border="1"> <caption>Approximate data from the radar chart</caption> <thead> <tr> <th>Attribute</th> <th>Familiarizado (%)</th> <th>No Familiarizado (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Saludable</td> <td>65</td> <td>45</td> </tr> <tr> <td>Rico</td> <td>15</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>Ácido</td> <td>10</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>Dulce</td> <td>15</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>Natural</td> <td>20</td> <td>15</td> </tr> </tbody> </table>	Attribute	Familiarizado (%)	No Familiarizado (%)	Saludable	65	45	Rico	15	10	Ácido	10	10	Dulce	15	10	Natural	20	15	<p>VMA F: 5.021 VMAN F: 4.602</p>
Attribute	Familiarizado (%)	No Familiarizado (%)																		
Saludable	65	45																		
Rico	15	10																		
Ácido	10	10																		
Dulce	15	10																		
Natural	20	15																		

Prototipo	Perfil esperado	Valor de agrado general
Verde musgo	<p>Perfil esperado para el producto verde musgo</p> <p>Legend: Familiarizado (green), No Familiarizado (orange)</p> <p>Attributes: Saludable, Rico, Natural, Dulce, Ácido</p>	<p>VMA F: 4.888 VMAN F: 4.323</p>
Azul	<p>Perfil esperado para el producto azul</p> <p>Legend: Familiarizado (green), No Familiarizado (orange)</p> <p>Attributes: Saludable, Rico, Natural, Dulce, Ácido</p>	<p>VMA F: 4.485 VMAN F: 4.027</p>

- VMA F (n=52): Valor Medio de Agrado General para el grupo Familiarizados
- VMAN F (n=52): Valor Medio de Agrado General para el grupo No Familiarizados

- Los perfiles se realizaron de acuerdo con la cantidad de veces que colocaron cada uno de los productos como el que mejor cumple los atributos estudiados,

Los valores de agrado general no presentan una diferencia significativa entre sí, pues el valor de p calculado es de 0.409, el cual es mayor al valor de $\alpha = 0.05$. Se puede apreciar al observar los valores de agrado general, que en todos los casos el grupo de personas familiarizadas, tiende a calificar de mejor manera los productos, que las personas no familiarizadas. Esto se puede observar de igual forma en la Figura 25. Además de esto, las medias del valor de agrado general para cada uno de los productos de colores distintos son muy similares entre sí, y la línea trazada entre los puntos del gráfico, aunque se aprecia cierto cambio, este es muy ligero, y las líneas son casi horizontales y rectas.

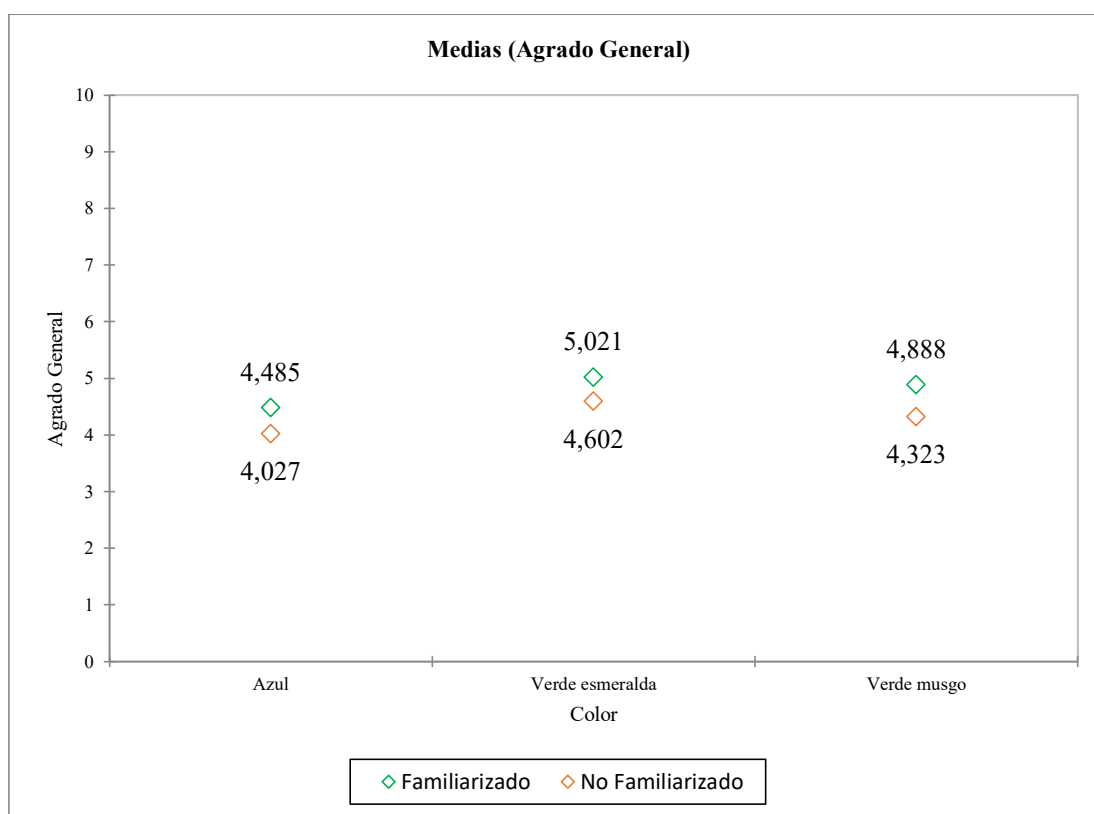


Figura 25. Valores medios de agrado general para los tres productos de colores distintos de jarabe dulce con espirulina, para dos grupos de consumidores distintos.

Por otro lado, destaca el contraste que se encuentra entre los perfiles esperados y los valores de agrado general dados por el panel. En primer lugar, se puede considerar que, de

los atributos evaluados de manera visual, el más representativo en relación con el agrado general sería “rico”. Bajo esta premisa, se puede observar que el producto percibido más rico, a partir de la evaluación visual (el azul), es también el producto con tiende a tener menor valor de agrado general para ambos grupos. Las personas esperaban un producto dulce y que este fuera el más rico de los tres. Además de esto, las personas, basadas en el color del producto, indican que este es el menos natural y saludable de los tres.

Parece interesante la relación que establecieron los participantes entre los atributos dulce y rico. Para el caso del producto azul al mencionar el atributo dulce, los grupos familiarizado y no familiarizado, colocan al prototipo azul cómo el que mejor cumple este atributo en un 92.31% y un 80.77% respectivamente. Al ver los productos con los cuales los participantes del *Focus Group* relacionan este color, adquiere sentido los porcentajes, pues se cree que al igual que los confites o gomitas, un jarabe azul es más dulce que sus contrapartes color verde esmeralda y verde musgo. Con base en estos resultados, no se puede obviar la posible correlación entre la percepción de “dulce” y “rico”. De acuerdo con el grupo de consumidores familiarizados y no familiarizados, el producto azul es el más rico en un 71.15% y un 63.46% respectivamente.

Tomando en cuenta las apreciaciones del *Focus Group*, se puede pensar que el panel que realizó la prueba de ordenamiento tuvo un proceso de pensamiento similar al momento de evaluar el prototipo azul. Para el producto azul, tanto los participantes del panel sensorial, cómo los participantes del *Focus Group*, coincidieron en que era esperado como más rico y más dulce, de los tres productos evaluados. Durante las sesiones grupales se destacó la relación que realizan los participantes entre productos azules y el atributo dulce. Se mencionan productos como “confites”, “algodón de azúcar”, “gomitas”, que por su naturaleza cuentan con este atributo cómo parte de sus características. Al enfrentarse a un alimento desconocido, del cual se esperaba que tuviera el dulzor propio de un jarabe, y los participantes lo relacionaran, por su color con otros productos dulces, pero no encontrarlo de esta manera, se genera una disonancia entre expectativa y realidad, que causa que el producto sea calificado con un menor valor de agrado general. De manera general, se ha encontrado que los consumidores normalmente responden de manera negativa ante una discrepancia entre la expectativa del sabor de un alimento y su verdadero perfil sensorial, pues esta

discrepancia lleva a una pobre percepción de la calidad de los alimentos (Liu *et al.*, 2022). Esto pudo hacer que el producto, de los tres evaluados, al ser esperado como el más rico sea el peor calificado, y es el que tiene una mayor división de criterios por parte del *Focus Group*, pues no cumplió con las expectativas generadas por la percepción de su color.

En contraste, el color verde esmeralda, aunque no fue considerado el más rico, a partir de la evaluación visual, sí fue el que tuvo tendió a tener el mayor valor de agrado general. De esta forma se ve el efecto contrario que se evidenció con el producto color azul, en el caso del verde esmeralda se tenían bajas expectativas, pero su perfil sensorial real sorprende de buena manera y se tiene un mejor valor de agrado general. Como se ha establecido ya, el producto verde esmeralda es el que más se asemeja, en cuanto al color, a la espirulina encontrada de forma comercial.

Durante las sesiones grupales se detectó que a algunos participantes les gusta el atributo ácido que presenta el producto verde esmeralda, en contraste otros no gustan tanto de este atributo. Es decir, fundamentados solamente en la información cualitativa recopilada, se puede mencionar que este es un atributo que genera opiniones divididas entre los participantes. Dependiendo de la aplicación en la que se consuma el producto, así va a ser la aceptación del atributo ácido del producto. Algunos de los participantes mencionaron que, en aplicaciones como bebida, les agrada la nota ácida que aporte el producto, en contraste, en aplicaciones como en yogurt, este no era algo deseado. Al analizar los perfiles esperados elaborados a partir de resultados del panel en el Cuadro XLVII, se observa que a simple vista el verde esmeralda no es percibido como el jarabe más rico, y en cuanto al atributo ácido se encuentra con valores similares a los otros dos jarabes. Sin embargo, una vez que se prueba el producto, este es el que tiende a obtener mayores calificaciones en agrado general. Esto podría indicar que las notas ácidas mencionadas por parte de los participantes del *Focus Group*, son bien recibidas en el jarabe de espirulina color verde esmeralda por parte de una parte mayoritaria del panel de 104 participantes, en el caso de probar el producto de manera directa.

En cuanto al color verde musgo, se ha establecido a lo largo del Capítulo, una serie de opiniones divididas que han tenido un efecto en cómo se califica el producto de este color de manera visual, y de manera cualitativa por parte del *Focus Group*. Una de las participantes

mencionó que el producto verde musgo no lo consumiría, “-Ni siquiera por ser saludable”. Por su parte, otro grupo de participantes gusta de este prototipo, y lo consumirían “directamente”, sin ningún tipo de aplicación de por medio. Esto habla de lo polarizado que se podría encontrar el panel, y los extremos que hay a la hora de evaluar el producto. Estos extremos hacen que se obtengan valores medios de agrado general, los cuales son muy cercanos a la media de los valores de agrado para el producto verde esmeralda. La diferencia entre ambas medias es de 0.14 para el grupo de familiarizados, y 0.28 para el grupo de no familiarizados. Lo que indica que el producto verde musgo, aunque sus expectativas eran muy bajas, al ser considerado “menos ricos” que el prototipo azul, y generar una barrera por el rechazo hacia el color, evidenciado por los participantes del *Focus Group*, resultó tener valores mayores de aceptación general. Por lo tanto, al igual que con el producto color verde esmeralda, las expectativas bajas que se tenían de este producto, generaron que se tuvieran mejores calificaciones de agrado general, al contrastar el perfil sensorial esperado con el real.

Al recordar momentos cuando los participantes han probado la espirulina, estos posiblemente recuerdan la misma como un alimento que no cumple con el atributo “rico”, por lo que califican este nuevo estímulo de la misma manera. Por esta razón, el producto con el color más distinto a la espirulina que se encuentra en el mercado es el elegido como el más rico. En contraste, para estos dos productos se seleccionó en el 53.92% (verde esmeralda) y 25.49% (verde musgo) de las veces como el más saludable y 45.19% (verde esmeralda) y 51.92% (verde musgo) de las veces como el más natural. Al observar estos tres porcentajes para los dos productos, se puede mencionar que, para el grupo de panelistas, los productos más saludables y naturales, no son precisamente los más ricos. Esto se contrasta con el resultado del agrado general. En este caso, el producto considerado como el más saludable, y el segundo más natural fue considerado, por ambos grupos de participantes como el que tenía mayor agrado general. De igual manera con el producto verde musgo, que siendo considerado el segundo más saludable y el más natural de los tres, fue el que tuvo el segundo valor más alto de agrado general. Tomando esto en consideración, se puede decir que la percepción en el imaginario de los participantes para un producto con espirulina, es que los productos más saludables y naturales, no son precisamente los más ricos. Esta apreciación resultó desmentida por los mismos participantes, al otorgarle mayores valores de agrado a estos productos.

7.4. Conclusiones y recomendaciones

De acuerdo con lo establecido en este capítulo, se logró comprobar la detección de tres productos con coloraciones distintas para llevar a cabo las valoraciones de percepción de color. Las diferentes coloraciones generaron efectos significativos en la percepción de los atributos natural, saludable, dulce, ácido y rico.

No se presentó un efecto de la familiaridad sobre la forma en que las personas perciben cada uno de los colores como el que mejor cumple cada uno de los atributos del estudio.

No obstante, sí se determinó que existe un efecto significativo del color sobre la forma en la que se perciben la mayoría de los atributos, tanto por el grupo familiarizado, como por el grupo no familiarizado. No se encontraron diferencias únicamente en la percepción del atributo ácido por parte del grupo familiarizado.

Se observó que el grupo familiarizado tiene mayor capacidad para discriminar entre muestras que el grupo no familiarizado. Este fenómeno se observa para la percepción de los atributos: “rico” y “saludable”.

Se determinó que el tono de verde puede tener una influencia en la percepción del estado y la calidad de un producto, y para el grupo de familiarizados, esto podría influir en la percepción del atributo “saludable”. El producto azul es el que se percibe como el menos saludable de los tres.

Ambos grupos, familiarizados y no familiarizados, asocian el color verde a productos alimenticios naturales, y la coloración azul, a productos alimenticios no naturales o artificiales.

Para el grupo de personas familiarizadas, en el atributo ácido, no se identifica un color cuyo efecto sea significativo sobre la percepción. Sin embargo, las personas no familiarizadas, si logran identificar el jarabe verde esmeralda como el producto que aparenta ser más ácido.

A nivel de expectativas, existe una fuerte relación entre los atributos “dulce” y “rico”. Dado que no se realizó una caracterización cuantitativa descriptiva de los productos evaluados, no es posible verificar si los niveles de agrado general están asociados al producto

que efectivamente se percibió como el más dulce durante la degustación. Por esto, se recomienda ampliar esta investigación, tomando en cuenta este componente.

Los productos que se espera sean más “saludables” o “naturales”, según su coloración, no son los que se espera sean los más “ricos”. Sin embargo, una vez que se realiza la prueba sensorial cuantitativa, estos productos presentan medias de agrado general un poco más altas, sin llegar a ser significativamente diferentes. Preliminarmente, se observa que, de forma generalizada, ambos grupos asocian a nivel de expectativas los atributos “dulce” y “rico”, los cuales, al mismo tiempo, se distancian de atributos como “saludable” y “natural”.

Fue posible observar la existencia de altas expectativas relacionadas a los atributos sensoriales “dulce” y “rico” para el jarabe de coloración azul, para cual se obtuvieron los valores medios de agrado general más bajos del estudio, por parte de ambos grupos de panelistas. Complementariamente, se observó para los jarabes verdes, en los cuales no existía este nivel de expectativa, valores de agrado sensorial ligeramente mayores, aunque no significativamente distintos. Por tanto, se podría generar la hipótesis de que las expectativas relacionadas a atributos sensoriales generadas o no de manera previa, podrían afectar de manera positiva o negativa los resultados obtenidos en valoraciones sensoriales de agrado general.

8. Bibliografía

- Abdulrahman, N. M., & Ameen, H. J. H. (2013). The Effect of Replacing Fishmeal with Spirulina on Growth and Productivity of Common Carp *Cyprinus carpio* L. *Journal of Scientific Research*, 86, 118-193. <https://doi.org/10.33899/IJVS.2013.82953>
- Adebowale, A.-R. A., & Sanni, L. O. (2013). Effects of solid content and temperature on viscosity of tapioca meal. *Journal of Food Science and Technology*, 50(3), 573–578. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0363-7>
- Adjali, A., Clarot, I., Chen, Z., Marchioni, E., & Boudier, A. (2022). Physicochemical degradation of phycocyanin and means to improve its stability: A short review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 12(3), 406–414. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2021.12.005>
- Adzinyo, O., Kpodo, F.M., Asimah, V.K., & Asante-Dornyinah, D. (2015). Sensory and Physicochemical Characteristics of Naturally Flavoured *Borassus aethiopum* Syrups for Potential Applications in Food Products. *Food Science and Quality Management*, 45, 109-113. doi
- Agudelo Cuellar, I. (2018). *Diseño de un laboratorio de análisis sensorial para la liberación de jarabes terminados y bebidas no alcohólicas, en el área de calidad de una empresa multinacional de consumo masivo* [Tesis de grado, Universidad Libre de Colombia]. Repositorio Universidad Libre <https://repository.unilibre.edu.co/handle/10901/15892>
- Ahmed, J., Ramaswamy, H.S. & Khan, A.R. (2005). Effect of Water Activity on Glass Transitions of Date Paste. *Journal of Food Engineering*, 66, 253-258. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.03.015>
- Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Al-Abid, M., Al-Shoaily, K., Al-Amry, M., & Al-Rawahy, F. (2007). Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their by-products. *Food Chemistry*, 104(3), 943–947. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.051>

- Aleid, S. M., & Haddadin, J. S. (2023). Valorization and Chemical Constituents Assessments of Khalas Dates Fruit, Syrup and Pits. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 11(1), 77–87. <https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.11.1.5>
- Al Hinai, M., Al Kalbani, A., Al Rubkhi, B., Al Kalbani, U., & Walke, S. (2019). Protein extraction from spirulina platensis. *International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering*, 8(12), 1524–1530. <https://doi.org/10.35940/ijitee.L3110.1081219>
- Antelo, F. S., Costa, J. A. V., & Kalil, S. J. (2008). Thermal degradation kinetics of the phycocyanin from Spirulina platensis. *Biochemical Engineering Journal*, 41(1), 43–47. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.03.012>
- Arribas, C., Cabellos, B., Cuadrado, C., Guillamón, E., & Pedrosa, M. M. (2020). Cooking Effect on the Bioactive Compounds, Texture, and Color Properties of Cold-Extruded Rice/Bean-Based Pasta Supplemented with Whole Carob Fruit. *Foods*, 9(4), 415. <https://doi.org/10.3390/foods9040415>
- Balzarini, J. (2007). Carbohydrate-Binding Agents: A Potential Future Cornerstone for the Chemotherapy of Enveloped Viruses? *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 18(1), 1–11. <https://doi.org/10.1177/095632020701800101>
- Bastin, C., Besson, G., Simon, J., Delhaye, E., Geurten, M., Willems, S., & Salmon, E. (2019). An integrative memory model of recollection and familiarity to understand memory deficits. *Behavioral and Brain Sciences*, 42, e281. <https://doi.org/10.1017/S0140525X19000621>
- Bearth, A., Cousin, M.-E., & Siegrist, M. (2014). The consumer's perception of artificial food additives: Influences on acceptance, risk and benefit perceptions. *Food Quality and Preference*, 38, 14–23. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2014.05.008>
- Begum, H., Yusoff, F. MD., Banerjee, S., Khatoon, H., & Shariff, M. (2016). Availability and Utilization of Pigments from Microalgae. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(13), 2209–2222. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.764841>

- Belé, J. S. A. H. S., Vicentini-Polette, C. M., Ceccato-Antonini, S. R., Spoto, M. H. F., Belini, V. L., & Verruma-Bernardi, M. R. (2019). Microbiological and Microscopic Analysis of Sugarcane Syrup. *Journal of Agricultural Science*, 11(17), 210. <https://doi.org/10.5539/jas.v11n17p210>
- Benoit, S. M., Afizah, M. N., Ruttarattanamongkol, K., & Rizvi, S. S. H. (2013). Effect of pH and Temperature on the Viscosity of Texturized and Commercial Whey Protein Dispersions. *International Journal of Food Properties*, 16(2), 322–330. <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.552015>
- Böcker, L., Hostettler, T., Diener, M., Eder, S., Demuth, T., Adamcik, J., Reineke, K., Leeb, E., Nyström, L., & Mathys, A. (2020). Time-temperature-resolved functional and structural changes of phycocyanin extracted from *Arthrospira platensis*/Spirulina. *Food Chemistry*, 316, 126374. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126374>
- Böcker, L., Ortmann, S., Surber, J., Leeb, E., Reineke, K., & Mathys, A. (2019). Biphasic short time heat degradation of the blue microalgae protein phycocyanin from *Arthrospira platensis*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 52, 116–121. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.11.007>
- Borgogno, M., Favotto, S., Corazzin, M., Cardello, A. V., & Piasentier, E. (2015). The role of product familiarity and consumer involvement on liking and perceptions of fresh meat. *Food Quality and Preference*, 44, 139–147. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2015.04.010>
- Borowitzka, M.A. (2009). M. E. Gershwin, A. Belay (eds). *Spirulina* in human nutrition and health. *Journal of Applied Phycology* 21(6), 747–748 <https://doi.org/10.1007/s10811-009-9467-0>
- Bourgougnon, N., Bedoux, G., Sangiardi, & Stiger, V. (2011). Las algas: Potencial nutritivo y aplicaciones cosméticas. En *Las algas como recurso. Valorización. Aplicaciones industriales y tendencias* (pp. 79–84). Centro Tecnológico del Mar.
- ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). (2005). Resolução RDC nº 271, de 22 de Setembro de 2005. <http://www.anvisa.gov.br>

- Brown, C. L., Vander Schaaf, E. B., Cohen, G. M., Irby, M. B., & Skelton, J. A. (2016). Association of Picky Eating and Food Neophobia with Weight: A Systematic Review. *Childhood Obesity, 12*(4), 247–262. <https://doi.org/10.1089/chi.2015.0189>
- Calvo, C., Salvador, A., & Fiszman, S. (2001). Influence of colour intensity on the perception of colour and sweetness in various fruit-flavoured yoghurts. *European Food Research and Technology, 213*(2), 99–103. <https://doi.org/10.1007/s002170100359>
- Capelli, B., & Cysewski, G. R. (2010). Potential health benefits of spirulina microalgae*: A review of the existing literature. *Nutrafoods, 9*(2), 19–26. <https://doi.org/10.1007/BF03223332>
- Cárdenas Nieto, J. D., Díaz Bacca, M. F., & Vizcaino Wagner, M. (2010). Industrialización del Alga Spirulina. *Revista Reciteia, 10*. (PDF) Industrialización del Alga Spirulina (researchgate.net)
- Chaiklahan, R., Chirasuwan, N., & Bunnag, B. (2012). Stability of phycocyanin extracted from *Spirulina* sp.: Influence of temperature, pH and preservatives. *Process Biochemistry, 47*(4), 659–664. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.01.010>
- Chauhan, O. P., Ravi, N., Roopa, N., Kumar, S., & Raju, P. S. (2017). High pressure, temperature and time-dependent effects on enzymatic and microbial properties of fresh sugarcane juice. *Journal of Food Science and Technology, 54*(12), 4135–4138. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2872-5>
- Choopani, A., Poorsoltan, M., Fazilati, M., Latifi, A. M., & Salavati, H. (2016). Spirulina: A Source of Gamma-linoleic Acid and Its Applications. *Journal of Applied Biotechnology Reports, 3*(4), 483–488. https://www.biotechrep.ir/article_69237.html
- Coleman, B., Van Poucke, C., Dewitte, B., Ruttens, A., Moerdijk-Poortvliet, T., Latsos, C., De Reu, K., Blommaert, L., Duquenne, B., Timmermans, K., van Houcke, J., Muylaert, K., & Robbens, J. (2022). Potential of microalgae as flavoring agents for plant-based seafood alternatives. *Future Foods, 5*, 100139. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100139>

- Cortés-Herrera, C., Quirós-Fallas, S., Calderón-Calvo, E., Cordero-Madriral, R., Jiménez, L., Granados-Chinchilla, F., & Artavia, G. (2021). Nitrogen/protein and one-step moisture and ash examination in foodstuffs: Validation case analysis using automated combustion and thermogravimetry determination under ISO/IEC 17025 guidelines. *Current Research in Food Science*, 4, 900–909. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.11.015>
- Cugelman, B. Cugeman, R. (2020) Color Psychology. For Ux, Design and Marketing. 2a ed. AlterSpark. Estados Unidos.
- Cycowicz, Y. M. (2019). Orienting and memory to unexpected and/or unfamiliar visual events in children and adults. *Developmental Cognitive Neuroscience*, 36, 100615. <https://doi.org/10.1016/j.dcn.2019.100615>
- Dagnino-Leone, J., Figueroa, C. P., Castañeda, M. L., Youlton, A. D., Vallejos-Almirall, A., Agurto-Muñoz, A., Pavón Pérez, J., & Agurto-Muñoz, C. (2022). Phycobiliproteins: Structural aspects, functional characteristics, and biotechnological perspectives. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 20, 1506–1527. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.02.016>
- Demelash, S. (2018). Spirulina as a main source of tryptophan for mental illness: Improving level of serotonin through tryptophan supplementation. *Global Journal of Medicine and Public Helath*. 7(2). <https://www.researchgate.net/publication/326293829>
- Dias, M. T., Bricio, S. M. L., Almeida, D. O., Oliveira, L. A. T., de Filippis, I., & Marin, V. A. (2012). Molecular characterization and evaluation of antimicrobial susceptibility of enteropathogenic E. coli (EPEC) isolated from minas soft cheese. *Food Science and Technology*, 32(4), 747–753. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612012005000059>
- Dimitreli, G., & Thomareis, A. S. (2004). Effect of temperature and chemical composition on processed cheese apparent viscosity. *Journal of Food Engineering*, 64(2), 265–271. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2003.10.008>

- Domínguez, H. (2013). 1—Algae as a source of biologically active ingredients for the formulation of functional foods and nutraceuticals. En H. Domínguez (Ed.), *Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals*. Swatson (Reino Unido): Woodhead Publishing. (pp. 1–19). <https://doi.org/10.1533/9780857098689.1>
- Enriquez, J. P. (2018). *Efecto de la viscosidad en la percepción de dulzura en una bebida*. [Tesis de licenciatura]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.
- Faieta, M., Neri, L., Sacchetti, G., Di Michele, A., & Pittia, P. (2020). Role of saccharides on thermal stability of phycocyanin in aqueous solutions. *Food Research International*, 132, 109093. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109093>
- Falkeborg, M. F., Roda-Serrat, M. C., Burnæs, K. L., & Nielsen, A. L. D. (2018). Stabilising phycocyanin by anionic micelles. *Food Chemistry*, 239, 771–780. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.007>
- Falquet, J. (2012). The nutritional aspects of spirulina. Antenna Technologies. https://www.antenna.ch/wp-content/uploads/2017/03/AspectNut_UK.pdf
- Fernández-Rojas, B., Hernández-Juárez, J., & Pedraza-Chaverri, J. (2014). Nutraceutical properties of phycocyanin. *Journal of Functional Foods*, 11, 375–392. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.10.011>
- Food and Drug Administration (Administración de Medicamentos y Alimentos de Estados Unidos) (FDA). (2021). Bacteriological Analytical Manual (BAM) Capítulo 3: Recuento Aerobio. Recuperado de: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-3-aerobic-plate-count>
- Food and Drug Administration (Administración de Medicamentos y Alimentos de Estados Unidos) (FDA). (2014). Water Activity (aw) in food. Recuperado de: <https://www.fda.gov/inspections-compliance-enforcement-and-criminal-investigations/inspection-technical-guides/water-activity-aw-foods>

- Fox, N. J., & Alldred, P. (2019). The Materiality of Memory: Affects, Remembering and Food Decisions. *Cultural Sociology*, 13(1), 20–36. <https://doi.org/10.1177/1749975518764864>
- Ful Company. (2023). White Peach Six Pack. FUL. <https://fulcompany.com/products/white-peach?variant=39485235429412>
- Garber, L. L., Hyatt, E. M., & Starr, R. G. (2000). The Effects of Food Color on Perceived Flavor. *Journal of Marketing Theory and Practice*, 8(4), 59–72. <https://doi.org/10.1080/10696679.2000.11501880>
- Giacalone, D., & Jaeger, S. R. (2016). Better the devil you know? How product familiarity affects usage versatility of foods and beverages. *Journal of Economic Psychology*, 55, 120–138. <https://doi.org/10.1016/j.joep.2016.02.005>
- Gonçalves, A. D., Alexander, C., Roberts, C. J., Spain, S. G., Uddin, S., & Allen, S. (2016). The effect of protein concentration on the viscosity of a recombinant albumin solution formulation. *RSC Advances*, 6(18), 15143–15154. <https://doi.org/10.1039/C5RA21068B>
- González, L. (2015). Efectos sobre el metabolismo lipoproteico y estrés oxidativo en ratas zucker fa/fa de cárnicos enriquecidos con glucomanano y espirulina. Tesis para obtener el grado de Ph, D. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España.
- Gutiérrez Cuesta, R., González García, K., Rivera Hernández, Y., Acosta Suárez, Y., & Marrero Delange, D. (2017). Algas marinas, fuente potencial de macronutrientes- Marine algae, potential source of macronutrients. *Revista Investigaciones Marinas*, 37(2), 16–28. <http://www.cim.uh.cu/rim/>
- Harni, M., Putri, S. K., Gusmalini, & Handayani, T. D. (2021). Characteristics Of Glucose Syrup From Various Sources Of Starch. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 757(1), 012064. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/757/1/012064>

- Hayes, M., & Ferruzzi, M. G. (2020). Update on the bioavailability and chemopreventative mechanisms of dietary chlorophyll derivatives. *Nutrition Research*, *81*, 19–37. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2020.06.010>
- Henrikson, R. (2009). *Earth food spirulina: How this remarkable blue-green algae can transform your health and our planet*. 6 ed. Hawaii (Estados Unidos): Ronore Enterprises. 174 p. <https://www.spirulinaresource.com/>
- Hernández-Lepe, M. A., Wall-Medrano, A., Juárez-Oropeza, M. A., Ramos-Jiménez, A., & Hernández-Torres, R. P. (2015). Spirulina y su efecto hipolipemiente y antioxidante en humanos: Una revisión sistemática. *Nutricion Hospitalaria*, *2*, 494–500. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.32.2.9100>.
- Herrera-Corredor, J. A., Saidu, J. E. P., Khachatryan, A., Prinyawiwatkul, W., Carballo-Carballo, A., & Zepeda-Bautista, R. (2007). *Identifying Drivers for Consumer Acceptance and Purchase Intent of Corn Tortilla*. *Journal of Food Science*, *72*(9), S727–S731. doi:10.1111/j.1750-3841.2007.00564.
- Hong, T., Iwashita, K., & Shiraki, K. (2018). Viscosity Control of Protein Solution by Small Solutes: A Review. *Current Protein & Peptide Science*, *19*(8), 746–758. doi:10.2174/1389203719666171213114919
- Hoppu, U., Puputti, S., Aisala, H., Laaksonen, O., & Sandell, M. (2018). Individual Differences in the Perception of Color Solutions. *Foods*, *7*(9), 154. <https://doi.org/10.3390/foods7090154>
- Hosseini, S. M., Khosravi-Darani, K., & Mozafari, M. R. (2013). Nutritional and Medical Applications of Spirulina Microalgae. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, *13*(8), 1231–1237. <https://doi.org/10.2174/1389557511313080009>
- Hurlbert, A., & Ling, Y. (2012). Understanding colour perception and preference. En *Colour Design* (pp. 129–157). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9780857095534.1.129>

- ICUMSA. (2004). International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis. ICUMSA Methods of sugar analysis: Official and tentative methods recommended by the International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis (ICUMSA). <https://www.icumsa.org/>
- Indrasti, D., Andarwulan, N., Purnomo, E. H., & Wulandari, N. (2018). Stability of Chlorophyll as Natural Colorant: A Review for Suji (*Dracaena angustifolia* (Medik.) Roxb.) Leaves' Case. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 6(3), 609–625. <https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.6.3.04>
- International Organisation of Vine and Wine. (OIV). (2006). Determination of chromatic characteristics according to CIELab. <https://www.oiv.int/public/medias/2478/oiv-ma-as2-11.pdf>
- Jaywant, S. A., Singh, H., & Arif, K. M. (2022). Sensors and Instruments for Brix Measurement: A Review. *Sensors*, 22(6), 2290. <https://doi.org/10.3390/s22062290>
- Kannaujiya, V. K., & Sinha, R. P. (2016). Thermokinetic stability of phycocyanin and phycoerythrin in food-grade preservatives. *Journal of Applied Phycology*, 28(2), 1063–1070. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0638-x>
- Kasajima, I. (2019). Measuring plant colors. *Plant Biotechnology*, 36(2), 63–75. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.19.0322a>
- Kassim, M. S., & Sarow, S. A. (2020). Flows of Viscous Fluids in Food Processing Industries: A review. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 870(1), 012032. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/870/1/012032>
- Khafaga, A. F., & El-Sayed, Y. S. (2018). Spirulina ameliorates methotrexate hepatotoxicity via antioxidant, immune stimulation, and proinflammatory cytokines and apoptotic proteins modulation. *Life Sciences*, 196, 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.01.010>

- Khanra, S., Mondal, M., Halder, G., Tiwari, O. N., Gayen, K., & Bhowmick, T. K. (2018). Downstream processing of microalgae for pigments, protein and carbohydrate in industrial application: A review. *Food and Bioproducts Processing*, *110*, 60–84. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.02.002>
- Koli, D. K., Rudra, S. G., Bhowmik, A., & Pabbi, S. (2022). Nutritional, Functional, Textural and Sensory Evaluation of Spirulina Enriched Green Pasta: A Potential Dietary and Health Supplement. *Foods*, *11*(7), 979. <https://doi.org/10.3390/foods11070979>
- König, L. M., & Renner, B. (2018). Colourful = healthy? Exploring meal colour variety and its relation to food consumption. *Food Quality and Preference*, *64*, 66–71. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2017.10.011>
- Korifi, R., Le Dréau, Y., Antinelli, J.-F., Valls, R., & Dupuy, N. (2013). CIEL*a*b* color space predictive models for colorimetry devices – Analysis of perfume quality. *Talanta*, *104*, 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.11.026>
- Kuddus, M., Singh, P., Thomas, G., & Al-Hazimi, A. (2013). Recent Developments in Production and Biotechnological Applications of C-Phycocyanin. *BioMed Research International*, *2013*, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2013/742859>
- Laksameethanasana, P., Somla, N., Janprem, S., & Phochuen, N. (2012). Clarification of sugarcane juice for syrup production. *Procedia Engineering*, *32*, 141–147. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2012.01.1248>
- Lecaro-Zambrano, J. L., & Garzón-Montealegre, V. J. (2021). Las Algas en la Productividad Económica de las Industrias. *Polo del Conocimiento*. *6*(12). 686-703. <https://doi.org/10.23857/pc.v6i12.3398>
- Levitan, C. A., Zampini, M., Li, R., & Spence, C. (2008). Assessing the Role of Color Cues and People's Beliefs About Color-Flavor Associations on the Discrimination of the Flavor of Sugar-Coated Chocolates. *Chemical Senses*, *33*(5), 415–423. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjn008>

- Liestianty, D., Rodianawati, I., Arfah, R. A., Assa, A., Patimah., Sundari., & Muliadi. (2019). Nutritional analysis of *spirulina sp* to promote as superfood candidate. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 509, 012031. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/509/1/012031>
- Liu, Z., Li, X., Wu, C., Zhang, R., & Durrani, D. K. (2022). The impact of expectation discrepancy on food consumers' quality perception and purchase intentions: Exploring mediating and moderating influences in China. *Food Control*, 133, 108668. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108668>
- Magri, N. T. C., Sartori, J. A. de S., Jara, J. L. P., Eberlin, M. N., & Aguiar, C. L. (2019). Precipitation of nonsugars as a model of color reduction in sugarcane juice (*Saccharum spp.*) submitted to the hydrogen peroxide clarification of the crystal sugar process. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(10). <https://doi.org/10.1111/jfpp.14137>
- Mahajan, A., & Ahluwalia, A. S. (2010). Effect of processing on functional properties of *Spirulina* protein preparations. *African Journal of Microbiology Research*, 4(1). 55-60. <http://www.academicjournals.org/ajm>
- Manolopoulou, E., & Varzakas, T. (2016). Effect of temperature in color changes of green vegetables. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 4 (Special Issue Nutrition in Conference October 2016): 10-17. 10.12944/CRNFSJ.4.Special-Issue-October.02
- Martelli, G., Folli, C., Visai, L., Daglia, M., & Ferrari, D. (2014). Thermal stability improvement of blue colorant C-Phycocyanin from *Spirulina platensis* for food industry applications. *Process Biochemistry*, 49(1), 154–159. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.10.008>
- Matos, Â. P., Novelli, E., & Tribuzi, G. (2022). Use of algae as food ingredient: Sensory acceptance and commercial products. *Frontiers in Food Science and Technology*, 2, 989801. <https://doi.org/10.3389/frfst.2022.989801>
- Mazzotta, A. S. (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. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-64.3.315>
- Mead, J. A., & Richerson, R. (2018). Package color saturation and food healthfulness perceptions. *Journal of Business Research*, 82, 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.jbusres.2017.08.015>
- Meilgaard C, Civille G, Carr T. (2016). Sensory evaluation techniques. 5a ed. Nueva York (Estados Unidos de América): CRC Press- Taylor and Francis group. 600p <https://doi.org/10.4315/0362-028X-64.3.315>
- Meiselman, H. L. (Ed.). (2020). *Handbook of Eating and Drinking: Interdisciplinary Perspectives*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-14504-0>
- Mellor, C., Embling, R., Neilson, L., Randall, T., Wakeham, C., Lee, M. D., & Wilkinson, L. L. (2022). Consumer Knowledge and Acceptance of “Algae” as a Protein Alternative: A UK-Based Qualitative Study. *Foods*, 11(12), 1703. <https://doi.org/10.3390/foods11121703>
- Michael, A., Kyewalyanga, M. S., & Lugomela, C. V. (2019). Biomass and nutritive value of Spirulina (*Arthrospira fusiformis*) cultivated in a cost-effective medium. *Annals of Microbiology*, 69(13), 1387–1395. <https://doi.org/10.1007/s13213-019-01520-4>
- Mishra, S. K., Shrivastav, A., & Mishra, S. (2010). Effect of preservatives for food grade C-PC from Spirulina platensis. *Process Biochemistry*, 43(4), 339–345. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.12.012>
- Montañez-Soto, J. L., Machuca, M. A. V., González, J. V., Nicanor, B., & González-Cruz, L. (2013). *Influence of Composition in the Rheological Behavior of High Fructose Syrups*. 4, 7. <http://www.soeagra.com/abr/abr.htm>
- Moradi-Kor, N., Ghanbari, A., Rashidipour, H., Bandegi, A. R., Yousefi, B., Barati, M., Kokhaei, P., & Rashidy-Pour, A. (2020). Therapeutic Effects of Spirulina platensis Against Adolescent Stress-Induced Oxidative Stress, Brain-Derived Neurotrophic Factor Alterations and Morphological Remodeling in the Amygdala of Adult Female

- Rats. *Journal of Experimental Pharmacology*, Volume 12, 75–85.
<https://doi.org/10.2147/JEP.S237378>
- Newsome, A. G., Culver, C. A., & van Breemen, R. B. (2014). Nature's Palette: The Search for Natural Blue Colorants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(28), 6498–6511. <https://doi.org/10.1021/jf501419q>
- Ngadi, M. O., & Yu, L. J. (2004). Rheological properties of Canadian maple syrup. *Canadian Biosystems Engineering*, 46(1), 5.
<https://www.researchgate.net/publication/240627695>
- Ngamwonglumlert, L., Devahastin, S., & Chiewchan, N. (2015). *Natural colorants: Pigment stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pretreatment and extraction methods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(15), 3243–3259. doi:10.1080/10408398.2015.1109498
- Ngo-Matip, M.-E., Pieme, C. A., Azabji-Kenfack, M., Moukette, B. M., Korosky, E., Stefanini, P., Ngogang, J. Y., & Mbofung, C. M. (2015). Impact of daily supplementation of *Spirulina platensis* on the immune system of naïve HIV-1 patients in Cameroon: A 12-months single blind, randomized, multicenter trial. *Nutrition Journal*, 14(1), 70. <https://doi.org/10.1186/s12937-015-0058-4>
- Nuhu, A. A. (2013). *Spirulina (Arthrospira): An Important Source of Nutritional and Medicinal Compounds. Journal of Marine Biology*, 2013, 1–8.
<https://doi.org/10.1155/2013/325636>
- Nyumba, T., Wilson, K., Derrick, C. J., & Mukherjee, N. (2018). The use of Focus Group discussion methodology: Insights from two decades of application in conservation. *Methods in Ecology and Evolution*, 9(1), 20–32. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12860>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (FAO). (2004). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. <https://www.fao.org/documents/card/en/c/22ef5e3c-015a-5d58-9493-c6ab2a9fbe15>

- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (FAO). (2019). Codex Alimentarius: Standard for Sugars. CXS 212-1999. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B212-1999%252FCXS_212e.pdf
- Östbring, K., Sjöholm, I., Rayner, M., & Erlanson-Albertsson, C. (2020). Effects of Storage Conditions on Degradation of Chlorophyll and Emulsifying Capacity of Thylakoid Powders Produced by Different Drying Methods. *Foods*, 9(5), 669. <https://doi.org/10.3390/foods9050669>
- Padilla-Zakour, O. 2009. Good manufacturing practices. En *Microbiologically Safe Foods*. Heredia, N; Wesley, I; Garcías, S. eds. Wiley & Sons, Inc. 407 p.
- Padulo, C., Carlucci, L., Manippa, V., Marzoli, D., Saggino, A., Tommasi, L., Puglisi-Allegra, S., & Brancucci, A. (2017). Valence, familiarity and arousal of different foods in relation to age, sex and weight. *Food Quality and Preference*, 57, 104–113. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2016.12.010>
- Pan-utai, W., Kahapana, W., & Iamtham, S. (2018). Extraction of C-phycoerythrin from *Arthrospira* (Spirulina) and its thermal stability with citric acid. *Journal of Applied Phycology*, 30(1), 231–242. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1155-x>
- Parages, M. L., Rico, R. M., Abdala-Díaz, R. T., Chabrillón, M., Sotiroudis, T. G., & Jiménez, C. (2012). Acidic polysaccharides of *Arthrospira* (Spirulina) platensis induce the synthesis of TNF- α in RAW macrophages. *Journal of Applied Phycology*, 24(6), 1537–1546. <https://doi.org/10.1007/s10811-012-9814-4>
- Parwani, L., & Singh, J. (2019). Effect of temperature on nutritional values of spirulina: useful for nutrient sustainable food preparations to combat malnutrition. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 89(4), 1259–1265. <https://doi.org/10.1007/s40011-018-1033-6>

- Pliner, P & Salvy, S. J. (2006). Food neophobia in humans. En: Shepherd R, Raats M,(Eds). *The psychology of food choice*. 75–92. Oxfordshire: CABI Publishing
- Pongsawatmanit, R., Yakard, N., Suwonsichon, T. (2011). Effect of xanthan gum on the quality of syrup thickened by modified starch during heating and storage. *Natural Science: 45*, 128-135. <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/anres/article/view/245141>.
- Rahman, D. Y., Susilaningih, D., & Van Der Maarel, M. J. E. C. (2021). Effect of light and preservatives on the stability of the phycocyanin from the extremophilic red microalgae *Cyanidioschyzon merolae*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 762(1), 012034. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/762/1/012034>
- Rahman, Md. H., Alam, M. A., Flura, Islam, Md. S., Arifuzzaman, Md., Moniruzzaman, Md., Jaman, A., Mukti, S. S., Talukdar, A., & Didar, Md. A. K. (2022). Proximate Composition Analysis of *Spirulina platensis* in Lab Scale Cultivation: Prospects of Digested Rotten Guava as a Culture Media. *Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research*, 29–38. <https://doi.org/10.9734/ajfar/2022/v19i5475>
- Ramírez-Rodrigues, M. M., Estrada-Beristain, C., Metri-Ojeda, J., Pérez-Alva, A., & Baigts-Allende, D. K. (2021). *Spirulina platensis* Protein as Sustainable Ingredient for Nutritional Food Products Development. *Sustainability*, 13(12), 6849. <https://doi.org/10.3390/su13126849>
- Ratha, S. K., Renuka, N., Rawat, I., & Bux, F. (2021). Prospective options of algae-derived nutraceuticals as supplements to combat COVID-19 and human coronavirus diseases. *Nutrition*, 83, 111089. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2020.111089>
- Richana, N, A. Budiyanto. (2011). *Gula singkong: proses pembuatan dan teknologi pengolahan / penulis, S.T.P.* Bandung: Penerbit Nuansa,
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2016). Natural food pigments and colorants. *Current Opinion in Food Science*, 7, 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.08.004>
- Sala, L., Figueira, F. S., Cerveira, G. P., Moraes, C. C., & Kalil, S. J. (2014). Kinetics and adsorption isotherm of C-phycocyanin from *Spirulina platensis* on ion-exchange

- resins. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 31(4), 1013–1022. <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20140314s00002443>
- Schlintl, C., & Schienle, A. (2020). Effects of Coloring Food Images on the Propensity to Eat: A Placebo Approach with Color Suggestions. *Frontiers in Psychology*, 11, 589826. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2020.589826>
- Seghiri, R., Kharbach, M., & Essamri, A. (2019). Functional Composition, Nutritional Properties, and Biological Activities of Moroccan *Spirulina* Microalga. *Journal of Food Quality*, 2019, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2019/3707219>
- Selmi, C., Leung, P. S., Fischer, L., German, B., Yang, C.-Y., Kenny, T. P., Cysewski, G. R., & Gershwin, M. E. (2011). The effects of *Spirulina* on anemia and immune function in senior citizens. *Cellular & Molecular Immunology*, 8(3), 248–254. <https://doi.org/10.1038/cmi.2010.76>
- Siegrist, M., & Hartmann, C. (2020). Consumer acceptance of novel food technologies. *Nature Food*, 1(6), 343–350. <https://doi.org/10.1038/s43016-020-0094-x>
- Sinha, S., Patro, N., & Patro, I. K. (2018). Maternal Protein Malnutrition: Current and Future Perspectives of *Spirulina* Supplementation in Neuroprotection. *Frontiers in Neuroscience*, 12, 966. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00966>
- Singh, R. (2015). Hybrid Membrane Systems – Applications and Case Studies. En *Membrane Technology and Engineering for Water Purification* (pp. 179–281). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63362-0.00003-3>
- Shankar, M. U., Levitan, C. A., & Spence, C. (2010). Grape expectations: The role of cognitive influences in color–flavor interactions. *Consciousness and Cognition*, 19(1), 380–390. <https://doi.org/10.1016/j.concog.2009.08.008>
- Sharma, S., Yadav, N., Pandey, A., Sharma, S., & Sharma, K. P. (2013). Antioxidant rich diet supplements (*Spirulina* and tamarind fruit pulp) mitigate hematological disorders in fluoride exposed mice. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 95(10), 1739–1747. <https://doi.org/10.1080/02772248.2014.907409>

- Sharoba, A. (2014). Nutritional value of spirulina and its use in the preparation of some complementary baby food formulas. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 5(8), 517–538. <https://doi.org/10.21608/jfds.2014.53033>
- Shi, Y., Pu, D., Zhou, X., & Zhang, Y. (2022). Recent Progress in the Study of Taste Characteristics and the Nutrition and Health Properties of Organic Acids in Foods. *Foods*, 11(21), 3408. <https://doi.org/10.3390/foods11213408>
- Siegrist, M., & Hartmann, C. (2020). Consumer acceptance of novel food technologies. *Nature Food*, 1(6), 343–350. <https://doi.org/10.1038/s43016-020-0094-x>
- Skalkos, D., & Kalyva, Z. C. (2023). Exploring the Impact of COVID-19 Pandemic on Food Choice Motives: A Systematic Review. *Sustainability*, 15(2), 1606. <https://doi.org/10.3390/su15021606>
- Spence, C., Levitan, C. A., Shankar, M. U., & Zampini, M. (2010). Does Food Color Influence Taste and Flavor Perception in Humans? *Chemosensory Perception*, 3(1), 68–84. <https://doi.org/10.1007/s12078-010-9067-z>
- Spence, C. (2015). On the psychological impact of food colour. *Flavour*, 4(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s13411-015-0031-3>
- Spence C, Piqueras B. (2016). *Oral-somatosensory contributions to flavor perception and the appreciation of food and drink*. Universidad de Oxford. 21p. <https://doi.org/10.1186/s13411-015-0031-3>
- Spence, C. (2018). What is so unappealing about blue food and drink? *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 14, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2018.08.001>
- Spence, C. (2021). What’s the Story with Blue Steak? On the Unexpected Popularity of Blue Foods. *Frontiers in Psychology*, 12, 638703. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2021.638703>

- Spirulina Becagli. (2023). SpiruUp - Organic drink with Spirulina. Spirulina Becagli. <https://spirulinabecagli.it/en/products/spiruup-bevanda-bio-con-spirulina>
- Sol-Ti. (2023). Blue Spirulina SuperAde® (16 PACK). Sol-Ti. <https://solti.com/products/blue-spirulina-superade-16-pack>
- Soni, R. A., Sudhakar, K., & Rana, R. S. (2017). Spirulina – From growth to nutritional product: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 69, 157–171. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.010>
- Szucs, V. (2014). *Consumer risk perception of food additives*. [Tesis doctoral]. Corvinus University of Budapest.
- Tang, G., & Suter, P. M. (2011). Vitamin A, Nutrition, and Health Values of Algae: Spirulina, Chlorella, and Dunaliella. *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences*, 1(2), 111–118. <https://doi.org/10.6000/1927-5951.2011.01.02.04>
- Temagoult, A., Zitouni, B., Noui, Y., Belkhir, B. S., & Bensadi, F. Z. (2022). The cooking influence on the characteristics of compotes based on prickly pear and date syrups. *Scientific Study and Research: Chemistry and Chemical Engineering*, 23(4), 321–332. <https://www.researchgate.net/publication/370928421>
- Torrico, D. D., Fuentes, S., Gonzalez Viejo, C., Ashman, H., & Dunshea, F. R. (2019). Cross-cultural effects of food product familiarity on sensory acceptability and non-invasive physiological responses of consumers. *Food Research International*, 115, 439–450. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.054>
- Tuorila, H., & Hartmann, C. (2020). Consumer responses to novel and unfamiliar foods. *Current Opinion in Food Science*, 33, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.09.004>
- United States Environmental Protection Agency (EPA). (2020). Sugarcane processing. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2020-10/documents/c9s10-1a>.
- Vicentini-Polette, C. M., Belé, J. S. A. H., Borges, M. T. M. R., Spoto, M. H. F., & Verruma-Bernardi, M. R. (2019). Physicochemical and sensorial characterization of

- commercial sugarcane syrups. *Revista de Ciências Agrárias*, 808-816 Pages.
<https://doi.org/10.19084/RCA.17279>
- Viera, I., Herrera, M., & Roca, M. (2022). Influence of food composition on chlorophyll bioaccessibility. *Food Chemistry*, 386, 132805.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132805>
- Villalta-Romero, F., Murillo-Vega, F., Martínez-Gutiérrez, B., Valverde-Cerdas, J., Sánchez-Kopper, A., & Guerrero-Barrantes, M. (2019). Biotecnología microalgal en Costa Rica: Oportunidades de negocio para el sector productivo nacional. *Revista Tecnología en Marcha*. <https://doi.org/10.18845/tm.v32i9.4634>
- Villanueva, N. D., Petenate, A. J., & Da Silva, M. A. (2005). Performance of the hybrid hedonic scale as compared to the traditional hedonic, self-adjusting and ranking scales. *Food Quality and Preference*, 16(8), 691-703.
- Wan, X., Woods, A. T., van den Bosch, J. J. F., McKenzie, K. J., Velasco, C., & Spence, C. (2014). Cross-cultural differences in crossmodal correspondences between basic tastes and visual features. *Frontiers in Psychology*, 5.
<https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.01365>
- Wu, H.-L., Wang, G.-H., Xiang, W.-Z., Li, T., & He, H. (2016). Stability and Antioxidant Activity of Food-Grade Phycocyanin Isolated from *Spirulina platensis*. *International Journal of Food Properties*, 19(10), 2349–2362.
<https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1038564>
- Wulandari, A., Sunarti, T. C., Fahma, F., & Enomae, T. (2020). The potential of bioactives as biosensors for detection of pH. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 460(1), 012034. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/460/1/012034>
- Yamano, N., Mizoguchi, T., & Fujii, R. (2018). The pH-dependent photophysical properties of chlorophyll-c bound to the light-harvesting complex from a diatom, *Chaetoceros calcitrans*. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 358, 379–385.
<https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2017.09.047>

- Yucetepe, A., Saroglu, O., Daskaya-Dikmen, C., Bildik, F., & Ozcelik, B. (2018). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of protein from *Spirulina platensis* using RSM. *Czech Journal of Food Sciences*, 36(1), 98–108. <https://doi.org/10.17221/64/2017-CJFS>
- Zheng, Y., Shi, J., Pan, Z., Cheng, Y., Zhang, Y., & Li, N. (2014). Effect of heat treatment, pH, sugar concentration, and metal ion addition on green color retention in homogenized puree of Thompson seedless grape. *LWT - Food Science and Technology*, 55(2), 595–603. doi:10.1016/j.lwt.2013.10.011
- Zhou, X., Wan, X., Mu, B., Du, D., & Spence, C. (2015). Crossmodal associations and subjective ratings of Asian noodles and the impact of the receptacle. *Food Quality and Preference*, 41, 141–150. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2014.11.013>

9. Anexos

9.1 Tabla nutricional de un jarabe comercial de chocolate utilizado como “topping”

NUTRITIONAL INFORMATION	
NUTRIENT	Per 100g
CALORIES	247.20
TOTAL FAT (g)	0.97
SATURATED FAT (g)	0.58
TRANS FAT (g)	0.00
CHOLESTEROL (mg)	0.00
SODIUM (mg)	38.12
TOTAL CARBOHYDRATE (g)	58.27
DIETARY FIBER (g)	2.81
TOTAL SUGARS (g)	50.19
ADDED SUGARS (g)	50.04
PROTEIN (g)	1.62
VITAMIN D (mcg)	0.00
CALCIUM (mg)	10.71
IRON (mg)	3.52
POTASSIUM (mg)	156.01

9.2. Tabla de letalidades (Valor F) a 93,3°C para productos con distintos valores de pH, para la dimensión de un tratamiento térmico.

TABLE 1 Thermal Processes for the Production of Hot-Packed Shelf-Stable Acid and Acidified Foods

Product pH	Minimum Lethality: $F_{93.3C}$ (min) ^a	Hot-Fill Temperature for 3-min Hold (°C)
4.4, 4.5	20.0	—
4.3, 4.4	10.0	99
4.2, 4.3	5.0	96
4.1, 4.2	2.5	93
4.0, 4.1	1.0	90
3.9, 4.0	0.5	87
<3.9	0.1	81

Source: Adapted from Pflug (1998).

^a $F_{93.3C}$ = equivalent time in minutes at 93.3°C to achieve commercial sterility, with a z-value of 8.9°C. z-value = indicates the change of death rate based on temperature; it is the number of degrees to achieve 90%.

9.3 Muestra de cálculo para el valor D.

Tratamiento de pasteurización.

$$ValorD = \frac{F}{10^{\left(\frac{T-TRef}{Valor z}\right)}} \cdot 60$$

$$ValorD = \frac{0.05}{10^{\left(\frac{70-71.1}{5.3}\right)}} \cdot 60$$

$$ValorD = 4,85 \text{ s}$$

Tratamiento de esterilización.

$$ValorD = \frac{F}{10^{\left(\frac{T-TRef}{Valor z}\right)}} \cdot 60$$

$$ValorD = \frac{0.1}{10^{\left(\frac{90-93.3}{8.9}\right)}} \cdot 60$$

$$ValorD = 14.09 \text{ s}$$

9.4. Aspas de la mezcladora utilizada para la elaboración del prototipo de jarabe dulce con espirulina.



9.5. Llenadora automática utilizada para empaclar los productos en los sobres laminados con recubierta de polímero.



9.6. Instrumentos utilizados para realizar el análisis de los parámetros de calidad.

Reómetro.



Colorímetro.



9.7. Formulario utilizado para el reclutamiento de participantes del panel sensorial y Focus Group.

Estudio sobre consumo de espirulina

El siguiente formulario tiene como fin recolectar información sobre potenciales participantes para un panel sensorial que forma parte de un trabajo final de graduación de la carrera de Ingeniería de Alimentos. Dicho panel se llevará a cabo durante entre los meses de marzo a abril, donde se evaluarán distintos productos que contienen espirulina. Toda la información recolectada será tratada de manera confidencial, y los resultados del panel sensorial serán utilizados para fines académicos únicamente. Si surge alguna duda durante el proceso de completar este formulario puede dirigirlas a Marcelo Jiménez Rodríguez al correo electrónico marcelojmnz@gmail.com o al número 8603-6525 durante el horario de lunes a viernes de 8:00 a.m. a 5 p.m.

Información Personal

Género

- Masculino
- Femenino
- Otro
- Prefiere no contestar

Edad

- 18-25 años
- 25-30 años
- 31- 40 años
- 41–50 años
- 51-60 años
- Más de 60 años

Provincia de lugar de residencia

- San José
- Alajuela
- Cartago
- Heredia
- Guanacaste
- Puntarenas
- Limón

Estilo de vida

¿Con qué regularidad realiza actividad física?

- Diariamente
- 3 o más veces por semana.
- Entre 1 y 3 veces por semana.
- Raramente.
- No realiza actividad física de manera regular.

¿Consumes suplementos dietarios de algún tipo?

- Sí.
- No.

Espirulina

¿Está familiarizado con la espirulina para consumo de las personas?

Sí.

No.

¿Qué sabe de la espirulina para consumo humano?

¿Es consumidor de espirulina en alguna de sus presentaciones?

Sí.

No.

Panel sensorial

¿Le gustaría participar en un panel sensorial y *Focus Group* (grupo focal), de productos con contenido de espirulina?

Sí, solo panel sensorial.

Sí, sólo *Focus Group*.

Sí, ambos

No.

Información de contacto

Indique un número de teléfono al cual se le pueda contactar

Indique un correo electrónico al cual se le pueda contactar

9.8. Consentimiento informado otorgado a los participantes del panel sensorial



FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Estimado (a) participante,

Agradecemos su disposición para participar en el estudio “Evaluación de prototipo de jarabe de espirulina”

Investigadora a cargo: M.Des. Pilar Fallas Rodríguez.


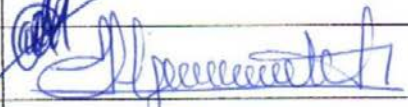

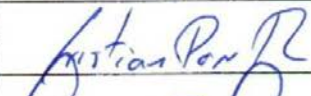
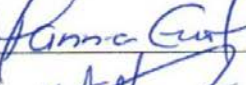







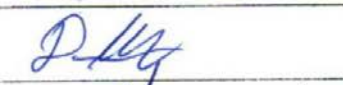



5. **PROPÓSITO DEL PROYECTO:** el estudio busca investigar las actitudes y creencias del consumidor costarricense ante productos novedosos con el fin de completar el proyecto de investigación número 735-C0-455 inscrito ante la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica por parte de investigadores del CITA (Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos) de la Universidad de Costa Rica, y enmarcado dentro del protocolo para evaluación sensorial establecido por el CITA y avalado por el Comité Ético Científico (CEC) de la Universidad de Costa Rica (según oficio VI-4191-2014).
6. **¿QUÉ SE HARÁ?:** la actividad consistirá en ejecutar una prueba de uso en casa y dos sesiones grupales virtuales, las cuales podrían tomar aproximadamente 90-120 minutos. Se tratarán temas referentes a su opinión con respecto al prototipo de producto creado. La sesión se llevará a cabo de manera virtual, utilizando la aplicación “Zoom”. Todos los datos recolectados mediante la encuesta serán tabulados y analizados. Durante la sesión se grabarán videos, se tomarán fotografías y en algunos casos se realizarán transmisiones en vivo para investigadores o partes interesadas. Toda la información recolectada será utilizada para fines de investigación y divulgación de la Universidad de Costa Rica. De igual manera, se mantendrá en todo momento la confidencialidad de la información y anonimato.
7. **RIESGOS:** todas las personas participantes deberán declarar la existencia de cualquier restricción alimentaria o alergia conocidas que podrían significar un riesgo para la salud. En caso de existir cualquiera de estas condiciones la participación en el

estudio será anulada.









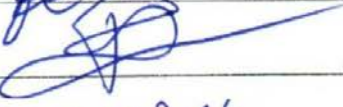
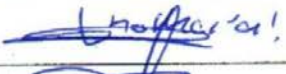



8. **BENEFICIOS:** como resultado de su participación en este estudio, usted obtendrá un reconocimiento simbólico por parte de los investigadores (as) a cargo, asimismo, con su participación contribuye al desarrollo de diferentes proyectos de investigación de la Universidad de Costa Rica.
9. Antes de dar su autorización para este estudio usted debe haber hablado con la investigadora del CITA Pilar Fallas Rodríguez quien deberá contestar satisfactoriamente todas sus preguntas. Si quisiera más información posteriormente, puede obtenerla llamando a Pilar Fallas al teléfono 2511-7224 en el horario de 8:00 a.m. a 5:00 pm.
10. Recibirá una copia de esta fórmula firmada para su uso personal.
11. Su participación en este estudio es voluntaria. Tiene el derecho de negarse a participar y puede suspender su participación en cualquier momento.
12. Su participación en este estudio es confidencial, los resultados podrían aparecer en una publicación científica o ser divulgados en una reunión científica, pero de una manera anónima.
13. No perderá ningún derecho legal por firmar este documento.









CONSENTIMIENTO

He leído o se me ha leído, toda la información descrita en esta fórmula, antes de firmarla. Se me ha brindado la oportunidad de hacer preguntas y éstas han sido contestadas en forma adecuada. Por lo tanto, accedo a participar como sujeto de investigación en este estudio

Nombre	Cédula	Firma
Proa Angelita Quiddy Padilla	110860112	
Eylin Gentero	502800365	
Verónica Campos S.	116160959	
Cristian Porras R	206640158	
Hannse Gutiérrez P	41970856	
Natalia Jiménez Corp	206820920	
Sofía Pérez U	4-223-711	
William Fonseca	1-10540092	
Natalia Barboza U.	205740999	
Valeria Sevilla C.	1-16960563	
Luis Andrés Jiménez Rodríguez	402240841	
Karolayn Alvarado	207090068	
Viviana Castillo Ch.	117070324	
Daniela Martínez Castro	11667-0530	
Karla Fallas	115310957	
Guiselle Malampas I	1-1070-0470	



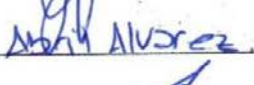




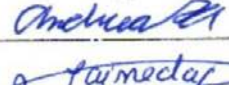


Nombre	Cédula	Firma
José Miguel Jiménez S.	402390639	
Carla Chan Madrigal	305290034	
Adriana Fernández Ulloa	117430677	
Marequita Lillo	1606106	
Zosé Achío Guilló	115680044	
Andrés Flores Siles	305020988	
Karina Rodríguez B	207830784	
Julia Caamaño V.	116790708	
Juan Salazar V	402400723	
Graciela Antuña B	Graciela B	112380157
Rosa Mora U.	1-622-264	
Pablo Ortiz C	1-1112-0268	
Ariana Zúñiga Calvo	1-1594-0351	
Gabriela Navarro V.	117250640	
Maritza Jara Ramírez	11080-7450	

Nombre	Cédula	Firma
Luis Fernando Rodríguez	110880113	
Maria José Vargas	115730641	
Noelio Romero Varela	118810287	N. Varela
Daniela Abarca Dablio	118090627	
Daniela Ugaldes	117840644	
Vanny Murak	603180799	
Priiscila Bolaños	402370669	
Alice Cartillo	116800722	Alice CM
David Martínez S.	2-772-438	
Farah Bouisson R	1-1752-0837	
Pablo Pérez R.	2-0780-0115	
María José Solís	116460342	María J Solís
Ana María Arcoja	305140718	
Ina Zimung Orj	1-0468-0201	
Katherine Ruiz Rojas	116390736	
Brenda Vargas M	1-1558-0710	
Isabel Quiros Acuña	1-1778-0659	Isabel Quiros L.
Andrea Cascante Vargas	1-1780-0970	Andrea Cascante V.

Nombre	Cédula	Firma
Reszon Fernandez	1-1193-0591	
Marisela Contreras	4018900003	
Jimena Mendez		
Pamela Ross	702770615	
Daniel Ulate B	402380664	Daniel Ulate B
Maya Godoy	105200139	Maya Godoy
Maitha Zurriaga	3-340-135	
Jorge Avendaño V.	3-416-752	Jorge Avendaño V.
Arelis Orozco S	39970995	
David Fallas	112080443	
Maria Matamoros	1-13540040	Maria Matamoros
Raciel Vindas Araya	118720782	Raciel Vindas Araya
Anthony Vindas Araya	115640539	
Amanda Lairate S	115830527	
Leonel Trigueros	4-212-451	
Reyna Mely Lopez		Reyna Mely Lopez
Melissa Barquero	109990216	
Priscilla Vega Hartley	117290648	
Randall Zurriaga	116200841	Randall Z.C.

Nombre	Cédula	Firma
Calderón Cayo Carlos Eduardo	901060511	
Emmanuel Ruiz Tenorio	018350110	Emmanuel
Marcela Gotgens	207550789	
Tania Vargas E	117450920	
Joana Jiménez Abaco	304330574	
Claudio Fdez N	3-0461-0774	Claudio Fdez N
Melina Picado Blanco	1-12660006	Melina Picado B
Marcy González	205610234	
Diego Rojas-Gotgens	117480363	
Mariana Campos	208030141	
Elena Casarite	117340124	
Nombre	Cédula	Firma
Freddy Calderón	108740181	
Roxas Guerrero B	1-0751-0308	Roxas Guerrero
Luis Diego Chaves Chaves	1-1495-0222	
Kristina Vargas	401520629	

Nombre	Cédula	Firma
Erick Guerrero Torres	1-1347-0001	
Alejandro Díaz Rodríguez	1-1724-0573	
Edgar Rodríguez S.	115440023	
Giuliana Martindelli M	207600899	
Shanti Ramakrishna	3-05140027	
Paula Núñez Marsh	1-1810-0422	
Camila Zúñiga Calvo	117600715	Camila Z
Grettel Villalobos A	402360032	
Roberto Castro	3-0424-0987	

Nombre	Cédula	Firma
María Paula González Miranda	118580243	
Jobby Alemán de	110830902	
Abel Agustín Álvarez	103200235229 103200235229	
Ana Elena Padilla González	207950691	
Merisabel Miranda Álvarez	1-1088-0444	
Rebeca Molina Valverde	117070405	Rebeca M
Antony Rojas Parrales	116660886	
José Eduardo Mejía	118280349	
Andrea Zamora Alvarado	117160860	
Ma. Lourdes Pineda C.	204350375	
Luis Carlos Molina Sánchez	114310528	

9.9. Guía para el panel sensorial

¡Bienvenid@ a esta prueba!

En esta prueba se evaluarán varios jarabes de espirulina. La espirulina es una microalga marina con varios efectos reportados: antioxidante, fuente de proteína, antiviral, anticancerígeno, entre otros. La gran mayoría de estos efectos beneficiosos se asocia a la **ficocianina**, una importante proteína presente en la espirulina.

Indique si se encuentra familiarizado con la espirulina

Sí

No

A continuación, indique su nombre y apellidos

A continuación, abra el paquete que recibió. Para esta sección se utilizará únicamente los sobres laminados con la numeración 127, 250 y 894, e cucharas y los 3 recipientes con el mismo código.

- 1) Llene cada uno de los recipientes con agua hasta la marca y disuelva una cucharada de cada uno de los tres jarabes en el recipiente correspondiente.
- 2) Una vez que complete esta tarea pase a la siguiente pantalla con el botón a la derecha.

Indique si nota una diferencia de color entre las tres muestras una vez disueltas

Sí

No

Observe el color de las muestras en los recipientes, y ordene desde la más saludable hasta la menos saludable. Para realizar el ordenamiento, arrastre los códigos de las muestras que se presentan en la columna de la derecha, sobre cada uno de los números que indican el orden: (1) = más saludable a (3) = menos saludable.

			250
			894
1	2	3	127

Observe el color de las muestras en los recipientes, y ordene desde la más natural hasta la menos natural. Para realizar el ordenamiento, arrastre los códigos de las muestras que se presentan en la columna de la derecha, sobre cada uno de los números que indican el orden: (1) = más natural a (3) = menos natural.

			250
			894
1	2	3	127

Observe el color de las muestras en los recipientes, y ordene desde la más dulce hasta la menos dulce. Para realizar el ordenamiento, arrastre los códigos de las muestras que se presentan en la columna de la derecha, sobre cada uno de los números que indican el orden: (1) = más dulce a (3) = menos dulce.

			250
			894
1	2	3	127

Observe el color de las muestras en los recipientes, y ordene desde la más ácida hasta la menos ácida. Para realizar el ordenamiento, arrastre los códigos de las muestras que se presentan en la columna de la derecha, sobre cada uno de los números que indican el orden: (1) = más ácida a (3) = menos ácida.

			250
			894
1	2	3	127

Observe el color de las muestras en los recipientes, y ordene desde la más saludable hasta la menos saludable. Para realizar el ordenamiento, arrastre los códigos de las muestras que se presentan en la columna de la derecha, sobre cada uno de los números que indican el orden: (1) = más saludable a (3) = menos saludable.

			250
			894
1	2	3	127

Para esta sección se utilizarán los 5 sobres laminados (los 3 ya abiertos y los 2 sin abrir)=, las 5 cucharas y el vaso que está rotulado cómo “agua”.

- 1) Sirva el vaso con agua.
- 2) Sirva una cucharada de cada una de las muestras y colóquelas en una superficie plana.
- 3) Una vez terminada esta tarea, pase a la página siguiente.

- 1) Pruebe las muestras una a una según el orden que aparece en la pantalla.
- 2) Para cada muestra indique cuanto le gusta, haciendo “click” sobre la escala.
- 3) Tome agua y espere 30 segundos entre muestra y muestra.



250



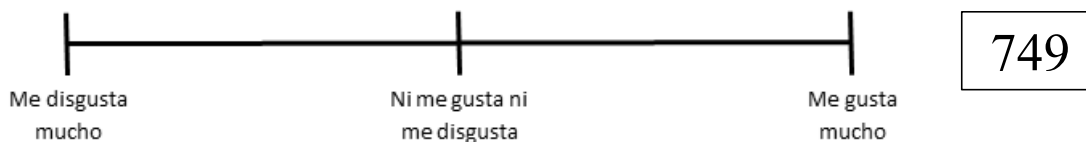
538



894



127



Usted ha finalizado la prueba.

¡Muchas gracias por su colaboración!

9.10. Consentimiento informado para el *Focus Group*

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO Estimado (a) participante, Agradecemos su disposición para participar en el estudio “Evaluación de prototipo de jarabe de espirulina”

Investigadora a cargo: M.Des. Pilar Fallas Rodríguez.

1. **PROPÓSITO DEL PROYECTO:** el estudio busca investigar las actitudes y creencias del consumidor costarricense ante productos novedosos con el fin de completar el proyecto de investigación número 735-C0-455 inscrito ante la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica por parte de investigadores del CITA (Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos) de la Universidad de Costa Rica, y enmarcado dentro del protocolo para evaluación sensorial establecido por el CITA y avalado por el Comité Ético Científico (CEC) de la Universidad de Costa Rica (según oficio VI-4191-2014).
2. **¿QUÉ SE HARÁ?:** la actividad consistirá en la observación y degustación de 3 prototipos de jarabe con un contenido de espirulina. Se mezclará con otras actividades y preguntas que permitan obtener una mayor información acerca de los aspectos que intervienen en la escogencia de un producto.
3. **RIESGOS:** todas las personas participantes deberán declarar la existencia de cualquier restricción alimentaria o alergia conocidas que podrían significar un riesgo para la salud. En caso de existir cualquiera de estas condiciones la participación en el estudio será anulada.
4. **BENEFICIOS:** como resultado de su participación en este estudio, usted obtendrá un reconocimiento simbólico por parte de los investigadores (as) a cargo, asimismo, con su

participación contribuye al desarrollo de diferentes proyectos de investigación de la Universidad de Costa Rica.


5. Antes de dar su autorización para este estudio usted debe haber hablado con la investigadora del CITA Pilar Fallas Rodríguez quien deberá contestar satisfactoriamente todas sus preguntas. Si quisiera más información posteriormente, puede obtenerla llamando a Pilar Fallas al teléfono 2511-7224 en el horario de 8:00 a.m. a 5:00 pm.
6. Recibirá una copia de esta fórmula firmada para su uso personal.
7. Su participación en este estudio es voluntaria. Tiene el derecho de negarse a participar y puede suspender su participación en cualquier momento.
8. Su participación en este estudio es confidencial, los resultados podrían aparecer en una publicación científica o ser divulgados en una reunión científica, pero de una manera anónima.
9. No perderá ningún derecho legal por firmar este documento.

CONSENTIMIENTO

He leído o se me ha leído, toda la información descrita en esta fórmula, antes de firmarla. Se me ha brindado la oportunidad de hacer preguntas y éstas han sido contestadas en forma adecuada. Por lo tanto, accedo a participar como sujeto de investigación en este estudio

Nombre, cédula y firma



Nombre, cédula y firma

Luis Esteban Torres Lépiz 1-1645-0589 
Nombre, cédula y firma


Patricia Alvarado Rodríguez 1-090213 Patricia Alvarado Rodríguez.
Nombre, cédula y firma


Marina Rodríguez Barrientes 207830984
Nombre, cédula y firma

David Montero Suárez @DMt. S 2-772-438
Nombre, cédula y firma

estudio
Natalia Bienes-Fernández 1-1701-0532 
Nombre, cédula y firma

Se me ha brindado la oportunidad de hacer preguntas y éstas han sido contestadas en forma adecuada. Por lo tanto, accedo a participar como sujeto de investigación en este estudio


Nombre, cédula y firma

Ana Elena Fernand
Céd 1-0567-0731

9.11. Guía de Focus Group

a. Objetivos

- Profundizar en las asociaciones relacionadas a los colores verde musgo, verde esmeralda y azul de forma general y específicamente en los alimentos
- Evaluar las asociaciones y expectativas del potencial consumidor en relación con el prototipo de jarabe de espirulina
- Contrastar las expectativas de los consumidores contra la percepción real del prototipo presentado
- Evaluar los posibles escenarios de uso y consumo del prototipo

b. Requerimientos

- 1 moderador
- 1 asistente
- 4 participantes de acuerdo con el perfil de reclutamiento.
- 1 documentador

c. Materiales

- Jarabe de espirulina (prototipos)
- Etiqueta nutricional del jarabe
- Imágenes de objetos con los colores de los prototipos
- Imágenes de alimentos con los prototipos
- Pinceles
- Pintura
- 4 bandejas para pintura
- Lapicero.
- Lápices
- 12 hojas de cuaderno de dibujo
- Servilletas

- Vasos
- Bandejas para servir
- Premios para los participantes

d. Espacio y equipamiento

- 1 sala de trabajo grupal con ventilación y luz adecuada.
- 1 proyector.
- 1 grabadora de sonido.
- 1 cámara fotográfica.

e. Cronograma

Tiempo	Actividad	Datos
0:05	Presentación y bienvenida	No aplica
0:10	Presentación de los participantes	No aplica
0:40	Evaluación del color	Hojas pintadas
0:50	Asociaciones primarias	Transcripción
1:05	Familiaridad con el producto y expectativa del sabor.	Transcripción
1:35	Escenarios y evaluación de uso	Transcripción
1:40	Cierre.	No aplica
Total: 1:40		

f. Descripción de actividades

- Presentación y bienvenida (5 minutos)
 - Los participantes se reciben en la sala de trabajo en grupo.

- Se da una bienvenida y un agradecimiento por asistir.
- Se explica brevemente de qué se trata la investigación y la dinámica de sesión grupal.
- Se indica que se está grabando audio y se tomarán fotografías de la actividad. Se procede a firmar un consentimiento informado.
- Se explica brevemente el cronograma a seguir.
- Se inicia con el primer ejercicio.

ii. Presentación de los participantes (5 minutos)

- Se les pide a los participantes que indiquen su nombre, y compartan alguna información sobre cada uno de ellos (pasatiempos, edad, familia, gustos entre otros).

iii. Evaluación del color. (30 minutos)

- Se provee a cada uno de los participantes de los materiales que van a necesitar para pintar (pinturas, paleta, pinceles, recipiente con agua, toallas de papel).



- Se les solicita a los participantes que dibujen una mancha o figura sobre cada uno de los papeles, inspirados por cada uno de los 3 colores. La mancha debe personificarse, puede tener manos, pies, rostro y nombre.
- Se les solicita a los participantes escribir alrededor de su mancha las palabras con las que asocian ese color.
- Se les solicita a los participantes escribir o dibujar alrededor de su mancha los alimentos que relacionan con ese color
- Se les pide a los participantes que comenten si los alimentos que dibujaron en cada una de las hojas, para cada uno de los colores, son de su agrado, desagradado o les es indiferente. También se les solicita que indiquen la frecuencia aproximada con la que consumen esos alimentos si fuera el caso.

iv. Asociaciones primarias (10 minutos)

- Se les entrega a los participantes cada uno de los prototipos para que los vean y manipulen, haciendo énfasis en que no se deben probar por el momento. Los prototipos cuentan con las etiquetas que se muestran en la siguiente figura.



- Se le realizan las siguientes preguntas al grupo.
 - ¿Qué es lo primero que viene a su mente?
 - ¿Qué creen ustedes que es esto? ¿Para qué sirve? ¿Cómo se usa?
 - ¿Se come? ¿Cómo se come?

v. Familiaridad con el producto y expectativa del sabor (15 minutos)

- ¿A qué cree usted que va a saber este producto?
- ¿Ha probado usted la espirulina antes? ¿Qué es? ¿A qué sabe?
- (Dar tres platos). Sin probarlos, vamos a únicamente observar. ¿Cuál de los prototipos consideran el más rico?
- ¿Más dulce?
- ¿Más ácido?
- ¿Más saludable?
- ¿Más natural?
- ¿Por qué?

vi. Escenarios y evaluación de uso (30 minutos)

- ¿Cómo les gustaría probar este producto?
- Tenemos estas opciones para que lo prueben (se presentan las opciones)



- ¿Cómo lo quieren probar?
- Se reparten los materiales. Se da la instrucción de probar.
- ¿Qué opinan de los jarabes en general? ¿Les parece atractiva esta forma de consumo de espirulina? ¿Por qué?
- ¿Cuál es el jarabe que tiene el mayor potencial? ¿Por qué?
- ¿Es un producto que comprarían? ¿Con qué frecuencia? ¿Cuánto pagarían por un sobre? (¿Dar rango de precios si es posible? En caso de no comprarlo. ¿Quién cree que compraría algo así?
- Se les pide a los participantes que indiquen cualquier sugerencia de mejora para el producto.

vii. Cierre y despedida (5 minutos)

- Se realiza una despedida y cierre. Agradeciendo a cada uno de los participantes por su tiempo y disposición de participar. Finalmente, se les entrega el premio por su participación.