

**Efecto de uso del extracto de la Flor de
Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) como colorante
natural y fuente de antioxidantes en las
características fisicoquímicas de yogur sabor
a fresa**

Richard Luis Castillo Araúz

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2017

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

**Efecto de uso del extracto de la Flor de
Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) como colorante
natural y fuente de antioxidantes en las
características fisicoquímicas de yogur sabor
a fresa**

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Richard Luis Castillo Araúz

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2017

Efecto del uso del extracto de la Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) como colorante natural y fuente de antioxidantes en las características fisicoquímicas de yogur sabor a fresa.

Richard Luis Castillo Arauz

Resumen. Los extractos de los cálices de Jamaica, por su contenido de antocianinas, representan una alternativa potencial para el reemplazo de los colorantes sintéticos en productos lácteos como el yogur. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la concentración del concentrado de fresa y del extracto de flor de Jamaica en los atributos tecnológicos del yogur con sabor a fresa. Se utilizó la metodología superficie repuesta con un diseño tipo centro rotacional de segundo orden considerando dos variables independientes: extracto de flor de Jamaica (1.6 a 4.4%) y concentrado de fresa (7.2 a 12.8%). Se establecieron cuatro puntos factoriales, cuatro puntos axiales y cuatro repeticiones del punto central para formar un total de 12 tratamientos. Las variables dependientes fueron diferencia de color (ΔE), estabilidad oxidativa, pH y sinéresis. Se demostró que a mayor concentración de extracto de Jamaica mayor es la (ΔE) alcanzando valores de 18.3, mientras que el concentrado de fresa no influyó en la (ΔE). La estabilidad oxidativa aumentó con el incremento en la concentración de extracto de Jamaica y el concentrado de fresa con un valor máximo de tiempo de inducción de 1.5 horas. El pH disminuyó al reducir la concentración del extracto de flor de Jamaica y del concentrado de fresa hasta valores de 4.0. La sinéresis aumenta un 19% con el aumento en ambas variables independientes. Se determinó que la combinación de 12.26 y 2.38% maximiza los atributos tecnológicos del yogur de fresa con extracto de Jamaica como colorante natural.

Palabras clave: Antocianinas, estabilidad oxidativa, superficie repuesta.

Abstract. Hibiscus, due to the amount of anthocyanin found on its extract, represents a potential alternative as a replacement for synthetic colorants in dairy products such as yogurt. The aim of this study was to evaluate the effect of strawberry concentrate and hibiscus extract on technological parameters of strawberry yogurt. The experiment was conducted using a surface response methodology central rotational type of second order composite considering two independent variables: hibiscus extract (1.6 to 4.4%) and strawberry concentrate (7.2 to 12.8%). The units in this experiment were: four factorial points, four axial points and four replications of the center point for a total of 12 treatments. The dependent variables evaluated were color difference (ΔE), oxidative stability, pH and syneresis. The results showed that as concentration of hibiscus extract increases, the difference in color also increases reaching a value of 18.3, while strawberry concentrate did not influence this parameter. The oxidative stability increased as concentration of both strawberry concentrate and hibiscus extract incremented at a maximum induction time of 1.5 hours. In the case of pH, lower values were obtained as concentration of strawberry and hibiscus decreased reaching a value of 4.0. As for syneresis, an increase in concentrations of both independent variables resulted in a 19% increment. In conclusion, a combination of 12.26% of strawberry concentrate with 2.38% of hibiscus extract improves the technological parameters of a strawberry yogurt using hibiscus as natural colorant.

Key words: Anthocyanin, oxidative stability, response surface.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido.....	iv
Índice de Cuadros, Figuras y Anexos	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	12
4. CONCLUSIONES	25
5. RECOMENDACIONES	26
6. LITERATURA CITADA.....	27
7. ANEXOS	32

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Niveles de variables independientes del diseño factorial completo	6
2. Niveles codificados y reales de los tratamientos en el diseño experimental.	7
3. Formulación del yogur natural	8
4. Formulación de los tratamientos de yogur con sabor a fresa.	8
5. Características físico-químicas del extracto etanólico de la flor de Jamaica.	12
6. Coeficientes de regresión, probabilidad (P), valor F y R^2 para la diferencia total de color ΔE en el yogur de fresa en función de la concentración de puré de fresa y de Extracto acuoso de flor de Jamaica.....	14
7. Coeficientes de regresión, probabilidad (P), valor F y R^2 para el tiempo de inducción en el yogur de fresa en función de la concentración de puré de fresa y de Extracto acuoso de flor de Jamaica.....	16
8. Coeficientes de regresión, probabilidad (P), valor F y R^2 para el pH, en el yogur de fresa en función de la concentración de puré de fresa y de Extracto de flor de Jamaica.....	18
9. Coeficientes de regresión, probabilidad (P), valor F y R^2 para la Sinéresis en el yogur de fresa en función de la concentración de puré de fresa y de Extracto acuoso de flor de Jamaica.....	20
10. Color en el yogur con extracto de flor de Jamaica y en yogur de fresa comercial.	23
11. Tiempo de Inducción en el yogur con extracto de flor de Jamaica y el yogur de fresa comercial.....	23
12. pH en el yogur con extracto de flor de Jamaica y el yogur comercial de fresa.	24
13. Sinéresis en yogur con extracto de flor de Jamaica y en comercial de fresa.....	24

Figuras	Página
1. Flujo de proceso para la elaboración de yogur sabor a fresa con harina de flor de Jamaica	9
2. Efecto de la adición de concentrado de fresa y de extracto de flor de Jamaica en el diferencial de color del yogur con sabor a fresa.	15
3. Efecto de la adición de concentrado de fresa y de extracto de flor de Jamaica en El tiempo de inducción en el yogur con sabor a fresa.....	17
4. Efecto de la adición de concentrado de fresa y de extracto de flor de Jamaica en los valores de acidez de pH en el yogur con sabor a fresa.	19
5. Efecto de la adición de concentrado de fresa y de extracto de flor de Jamaica en los valores de sinéresis en el yogur con sabor a Fresa.....	21

Figuras	Página
6. Función de utilidad para determinar la concentración optima de concentrado de fresa extracto de flor de Jamaica..	22

Anexos	Página
1. Distribución de los valores pH de la prueba T student en el yogur optimizado y el yogur comercial de fresa.....	32
2. Distribución de los valores de tiempo de inducción de la prueba T student en el yogur optimizado y el yogur comercial de fresa.	32
3. Distribución de los valores de sinéresis de la prueba T student en el yogur optimizado y el yogur comercial de fresa.....	33
4. Distribución de los valores de luminosidad (L) de la prueba T student en el yogur optimizado y el yogur comercial de fresa.	33

1. INTRODUCCIÓN

Los consumidores marcan la pauta en cuanto al remplazo progresivo de colorantes sintéticos por colorantes naturales en alimentos (Carmona 2013). Para el 54% de los consumidores es factor importante a la hora de elegir un producto que esté fabricado exclusivamente con colorantes naturales (Anzueto 2013). Esto ha llevado a muchas empresas, a evaluar las formulaciones de sus productos y sustituir cuando es tecnológicamente factible los colorantes sintéticos por pigmentos naturales.

Actualmente la calidad y variedad de colorantes provenientes de fuentes naturales ha mejorado sustancialmente, dentro de las alternativas potenciales para la obtención de pigmento naturales podemos citar las antocianinas provenientes de la flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) (Sumaya *et al.* 2014). La flor de Jamaica es una planta herbácea anual que pertenece a la familia de la Malváceas. Es originaria de África tropical y actualmente su cultivo se extiende por México, América Central y del sur, y en el sudeste asiático (Patricio 2012). El color de cálices de Jamaica está relacionado con el contenido de antocianinas 300 mg/100g expresado como cianidina 3- glucósido (Sotomayor y Vargas 2017). Diversos estudios han utilizado los extractos acuosos de los cálices de la flor de Jamaica como colorante en alimentos de los cuales podemos mencionar el yogur (Ramos y Zabaleta 2012, Cevallos 2015) y en la formación de salchicha franckfurter (Ordoñez y Saavedra 2016).

Las antocianinas son el principal grupo pigmentos naturales hidrosolubles detectables en la región visible del ojo humano (Castañeda y Guerrero 2015). Las antocianinas son glucósidos de antocianinas pertenecientes a la familia de los flavonoides, compuestos por dos anillos aromáticos unidos por una cadena de tres carbonos mediante un enlace beta-glucosídico (Garzón 2008). En la naturaleza se encuentran seis antocianidinas diferentes, de la que se derivan una infinidad de antocianinas, con diversas pautas de glicosidación (Ortiz *et al.* 2011).

El interés en los extractos acuosos de la flor de Jamaica se ha incrementado no solamente por el color que confieren si no por sus propiedades nutraceuticas. Estudios con fracciones de antocianinas provenientes de extractos de flor de Jamaica han demostrado que son efectivas en atrapar especies reactivas de radicales libres además de inhibir la oxidación de lipoproteínas y la aglutinación de plaquetas. Estas características hacen que la flor de Jamaica se convierta en una materia prima utilizada en la formulación y elaboración de alimentos funcionales (Galicia *et al.* 2008; Reyes *et al.* 2015).

En los últimos años se han implementado etapas adicionales en la fabricación de yogur, como la incorporación de extractos con el fin de fortalecer la capacidad antioxidante de este

producto de manera que tenga un efecto benéfico en la salud del consumidor. Salinas *et al.* (2005) investigaron sobre la extracción y uso de pigmentos del grano de maíz como colorantes en yogur. Lo que permite elaborar un alimento funcional de color morado con alta actividad antioxidante.

El yogur es un producto lácteo acidificado y coagulado, obtenido por medio de la fermentación láctica de la leche o mezcla de esta con derivados, mediante la acción simbiótica de bacterias lácticas, (*Lactobacillus delbrueckii* subs. *bulgaricus* y *Streptococcus salivaris* subsp. *Thermophilus*). El sabor, la textura y el aroma del yogur varían dependiendo del país de origen y de otros factores como la formulación de la preparación y el proceso de fabricación; puede ser natural o con sustancias añadidas como frutas, agentes gelificantes, azúcar (Walstra *et al.* 2001). El yogur es un alimento de alto valor nutritivo y su tradicional y continuo consumo en el mundo se debe fundamentalmente a su imagen como producto sano (Ramos y Zabaleta 2013).

Los extractos acuosos de la flor de Jamaica por su contenido de antocianinas y compuestos bioactivos representan un potencial para el reemplazo competitivo de colorantes sintéticos en alimentos, y para la obtención de productos con valor agregado dirigidos al consumo humano. Sin embargo, mucho hay por aprender en cuanto a su estabilidad en matrices específicas y a la relación entre su estructura, los efectos sinérgicos y las dosis efectivas. En base a esto se plantearon los siguientes objetivos:

- Determinar la combinación de extracto de flor de Jamaica y concentrado de fresa que optimice los atributos tecnológicos y la estabilidad oxidativa del yogur con sabor a fresa.
- Evaluar las características fisicoquímicas del yogur de fresa con extracto de flor de Jamaica y compararlas con un yogur de fresa comercial.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del estudio.

El estudio se realizó en la planta de productos lácteos y en el laboratorio de análisis de alimentos del departamento de Agroindustria Alimentaria, en la Escuela Agrícola Panamericana ubicada en el Departamento de Francisco Morazán, 32 Km al este de Tegucigalpa, Honduras.

Fase preliminar.

Extracción y caracterización del extracto etanólico de flor de Jamaica.

Material vegetal. Los cálices deshidratados de flor de Jamaica *Hibiscus sabdariffa*, fueron comprados al puesto de ventas zamorano, los cuales son distribuidos por el grupo Naturamas S. de R.L. bajo la marca del Bosque®.

Preparación de la muestra. Se pesaron 225 g de cálices deshidratados de *Hibiscus sabdariffa* L. y se redujo el tamaño de partícula con el molino de discos Perten® programado en el segundo nivel de velocidad. Posteriormente se colocó la harina obtenida en el molino CT 193 Cyclotec® con una malla de 0.5 mm para disminuir el diámetro de las partículas, aumentando la superficie de contacto para extraer la mayor cantidad de antocianinas. Finalmente se colocó harina en bolsas plásticas y fueron almacenadas en refrigerador con una temperatura promedio de 4 °C (Chicaiza y Flores 2016).

Extracción. Se empleó el método optimizado, descrito por Sotomayor y Vargas (2017). Se preparó una solución de etanol al 41.59% y se ajustó el pH a un valor de 3.2 con una solución de ácido clorhídrico a 1 N. Para la lectura del pH se utilizó el potenciómetro The Oyster™ calibrado con soluciones buffer de pH 4, 7 y 10. Se pesaron 29.7 g de harina utilizando la balanza OHAUS®, en una cubeta de precipitado cubierto con papel aluminio, seguido se agregaron 71.3 ml de solución de etanol al 41.6% y se agitó manualmente durante un minuto. Luego, el extracto se colocó en la incubadora durante ocho horas a 31 °C. Al culminar las ocho horas de extracción, se transfirió el extracto en tubos de ensayo y se centrifugaron a 4000 rpm durante 30 minutos a 10 °C, utilizando la centrifuga Symphony™ 441. Finalmente, se extrajo el sobrenadante y se colocó en matraz cubierto con papel aluminio y se almacenó en el refrigerador a una temperatura de 4 °C para posteriormente realizar la caracterización del extracto y la formulación de los tratamientos.

Caracterización y cuantificación del contenido de antocianinas del extracto de Flor de Jamaica.

Color. El color se evaluó por triplicado mediante el colorímetro Color Flex de Hunterlab® con un iluminante D/65 y un ángulo 10°. Se depositaron 10 ml del extracto acuoso en la capsula de vidrio del Hunter Lab que es especial para líquidos. Los resultados se presentaron como la media de las tres lecturas de la escala triple estímulo $L^* a^* b^*$. El valor de L^* mide la luminosidad (claridad) en una escala de 0 a 100, siendo el color negro 0 y el blanco 100. La coordenada a^* mide los colores de verde a rojo, siendo de - 60 a 0 color verde y 0 + 60 color rojo. La coordenada b^* mide los valores de azul - 60 a 0 y amarillo de 0 + 60.

Medición de sólidos solubles (°Brix). Se utilizó un refractómetro mediante el método AOAC 932.12. El análisis se realizó por triplicado y los resultados fueron reportados en porcentaje.

pH. Se evaluó por medio del potenciómetro Thermo scientific® mediante el método AOAC 981.17. Se midió por triplicado utilizando 20 ml del extracto.

Concentración de antocianinas en el extracto acuoso de flor de Jamaica. El contenido total de antocianinas se calculó utilizando el método de pH diferencial. Se añadieron 0.5 ml de extracto acuoso de flor de Jamaica a 24.5 ml de agua destilada en una cubeta de precipitación envuelto en papel aluminio para obtener una dilución 50X y se mezcló durante un minuto. Se añadió 0.5 ml de la solución anterior a un tubo de ensayo cubierto con papel aluminio, con 4.5 ml de solución buffer pH 1 de Cloruro de Potasio (0.025 M) y a otro tubo con 4.5 ml de buffer Acetato de sodio (pH 4.5 0.4 M), obteniendo una dilución 10X. Luego, se tapó la muestra y se dejó reposar por 45 minutos en oscuridad. Finalmente, se midió la absorbancia de los extractos utilizando un espectrofotómetro de Agilent Technology Carry 8454 UV-VIS. Se calibró el equipo usando como blanco agua destilada y se hizo la lectura en el espectrofotómetro a 520 nm y a 700 nm. La concentración de antocianinas fue determinada mediante la ecuación 1. El análisis se realizó por triplicado y los resultados se reportaron en $\frac{mg}{L}$ de cianidina-3-glucósido (Chicaiza y Flores 2016).

$$\text{Concentración } \left(\frac{mg}{L} \right) = \left(\frac{\text{Absorbancia ajustada}}{\text{Coeficiente de extinción molar}} \right) * PM * 1000 * FD \quad [1]$$

La absorbancia ajustada se determinará mediante la ecuación 2.

$$\text{Absorbancia Ajustada} = (Abs_{520} - Abs_{700})_{pH1.0} - (Abs_{520} - Abs_{700})_{pH4.} \quad [2]$$

Donde:

PM (peso molecular) = 457.6 gr/mol de cianidina-3-glucósido.

Coeficiente de extinción molar = 29600 de cianidina-3-glucósido.

1000 es el factor de conversión de molar a ppm (mg/L)

FD (factor de dilución) = 50X * 10X = 500X

Fase 1. Optimización de la estabilidad oxidativa y los atributos tecnológicos del yogur de fresa.

Se evaluó el efecto de las variables independientes; adición de puré de fresa y de extracto de flor de Jamaica, en las características químicas y físicas del yogur con sabor a fresa. Las variables dependientes establecidas fueron: pH, el color, la sinéresis y la estabilidad oxidativa.

Diseño experimental.

Se estableció un experimento factorial completo 2^2 estadísticamente delineado en la metodología Superficie de Respuesta con un diseño tipo centro rotacional de segundo orden (DCCR) con una probabilidad $P < 0.10$. Las variables independientes establecidas en el estudio fueron estudiadas en tres niveles codificados (-1, 0, 1) (ecuación 3).

$$x_i = (X_i - \frac{Z}{\Delta x_i}) \quad [3]$$

Dónde:

x_i = Valor codificado de la X_i .

X_i = Valor real de la variable.

Z = Valor real de la variable en el punto central.

Δx_i = Valor del intervalo de la variable x_i .

Este delineamiento también incluye niveles de variables axiales codificados como $-\alpha$ y α , este valor depende del número factorial ($F=2^k$), donde número K es el número de variables independientes ($K=2$), en el caso de este experimento se define por la ecuación 4.

$$\pm\alpha = (F)^{\frac{1}{4}} = (2^k)^{\frac{1}{4}} = (2^2)^{\frac{1}{4}} = 1.414 \quad [4]$$

El número de tratamientos fue determinado con un experimento factorial completo definido por la ecuación 5.

$$n = 2^k + 2k + m \quad [5]$$

Donde:

2^k = número de puntos factoriales

$2K$ = número de puntos axiales

m = número de repeticiones del punto central

Los tratamientos se distribuyeron de la siguiente manera:

$2^k = 2^2 = 4$ puntos factoriales.

$2K = 2 \times 2 = 4$ puntos axiales.

$m = 4$ repeticiones del punto central.

Total = 12 unidades experimentales.

Para el análisis de los resultados experimentales, la metodología describe el comportamiento de variables independientes (X_k) y su efecto en las variables dependientes o respuesta (Y_i). La respuesta es una función donde se combinan estos (ecuación 6).

$$Y_i = F = (X_1, X_2, \dots, X_k) \quad [6]$$

A través de un análisis de regresión lineal se describe un polinomio de primer y segundo orden de las variables independientes por cada variable dependiente. La ecuación 7 describe la expresión general utilizada para predecir el comportamiento de cada respuesta.

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \epsilon \quad [7]$$

Donde:

Y_i = Función respuesta

X_1, X_2, X_3 = Valores de variables independientes

β_0 = Coeficiente del intercepto del eje Y

$\beta_1, \beta_2, \beta_3$ = Coeficientes lineales encontrados por el método de mínimo cuadrados.

$\beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33}$ = Coeficientes de variables cuadráticas

β_{12} = Coeficiente de interacción entre variables independientes

ϵ = Error del experimento

Los valores máximos y mínimos de las variables independientes se establecieron de acuerdo con literatura consultada y recomendaciones técnicas. La codificación de las variables independientes y sus valores decodificados se detallan en el cuadro 1. Los niveles de las variables independientes fueron descritos como la combinación de todos los niveles, axiales ($\alpha = 1.414$) y puntos centrales a las diferentes proporciones establecidas.

Cuadro 1. Niveles de variables independientes del diseño factorial completo

Variables Independientes	Niveles				
	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
X_1 Concentrado de fresa	7.2	8	10	12	12.8
X_2 Extracto flor de Jamaica	1.6	2	3	4	4.4

El delineamiento del experimento comprende la expresión completa de todas las variables independientes codificadas y decodificadas las cuales fueron usadas para la obtención de los análisis de varianza y coeficientes de regresión, así como para la diagramación de las superficies de respuesta (Cuadro 2).

Cuadro 2. Niveles codificados y reales de los tratamientos en el diseño experimental.

Tratamientos	Niveles codificados de variables		Niveles decodificados de variables	
	X ₁	X ₂	Concentrado de fresa (%)	Extracto de flor de Jamaica (%)
1	-1.000	-1.000	8.0	2.0
2	-1.000	1.000	8.0	4.0
3	1.000	-1.000	12.0	2.0
4	1.000	1.000	12.0	4.0
5	-1.414	0.000	7.2	3.0
6	-1.414	0.000	12.8	3.0
7	0.000	-1.414	10.0	1.6
8	0.000	1.414	10.0	4.4
9	0.000	0.000	10.0	3.0
10	0.000	0.000	10.0	3.0
11	0.000	0.000	10.0	3.0
12	0.000	0.000	10.0	3.0

X₁ concentrado de fresa; X₂ extracto de flor de Jamaica.

Análisis estadístico.

El procesamiento de los datos se realizó con el software STATISTICA 7.0, utilizando las variables codificadas para la obtención de los coeficientes de regresión y las variables decodificadas para generación de las superficies repuestas. La validación del modelo se realizó mediante el análisis de varianza (ANDEVA) con el uso de la prueba de distribución F a una $P < 0.10$.

La significancia del modelo se definirá como predictivo o tendencioso de acuerdo con tres factores; el coeficiente de determinación (R^2) utilizado para evaluar la adecuación del modelo, es predictivo si está por encima de 0.70, y si es menor el modelo será clasificado como tendencioso. Otro factor que se tomara en cuenta para definir el modelo como predictivo es la falta de ajuste la cual no debe ser significativa a una $P < 0.10$ y por último el valor del F calculado debe ser mayor al F tabular (Rocha 2009).

Formulación y elaboración del yogur de fresa.

En la elaboración del yogur de fresa se utilizó como base la formulación del yogur natural de Zamorano que se muestra en el cuadro 3. Se elaboraron 12 tratamientos, para cada tratamiento se formularon 300 g de yogur en los cuales las diferentes concentraciones de concentrado de fresa y extracto de flor de Jamaica varían de acuerdo con el tratamiento como se muestra en el cuadro 4.

Cuadro 3. Formulación del yogur natural

Ingredientes	Cantidad (kg)	Porcentaje (%)
Leche estandarizada	82.67	84.60
Leche descremada en polvo	7.02	8.50
Azúcar	6.40	6.40
Estabilizador	0.50	0.50
Cultivo Lactico	0.06	0.06

Fuente: Planta de Lácteos Zamorano

Cuadro 4. Formulación de los tratamientos de yogur con sabor a fresa.

Tratamientos	Yogur natural (g)	Concentrado de fresa (g)	Extracto de flor de Jamaica (mL)
1	300	24.00	6.00
2	300	24.00	12.00
3	300	36.00	6.00
4	300	21.50	12.00
5	300	38.50	9.00
6	300	30.00	9.00
7	300	30.00	4.80
8	300	30.00	13.20
9	300	30.00	9.00
10	300	30.00	9.00
11	300	30.00	9.00
12	300	30.00	9.00

Se utilizó el flujo de proceso desarrollado por la planta de lácteos Zamorano, sustituyendo la adición del colorante rojo 40 por el extracto de la flor de Jamaica (Figura 1).

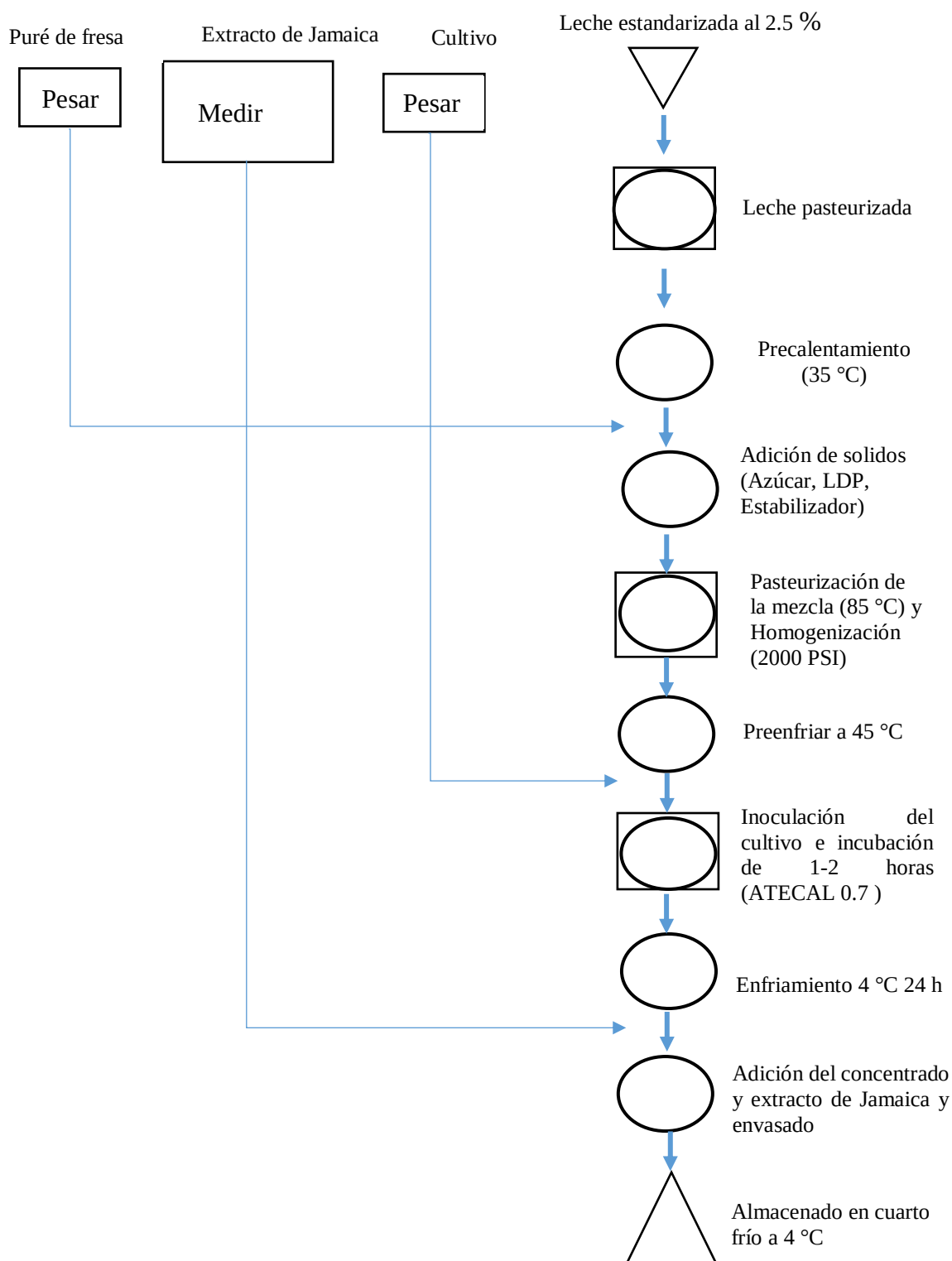


Figura 1. Flujo de proceso para la elaboración de yogur sabor a fresa con harina de flor de Jamaica.

Fase 2.

En la fase dos se aplicaron los valores optimizados de las variables independientes, el porcentaje de puré de fresa y extracto de flor de Jamaica, en la formulación del yogur con sabor a fresa y se compararon las características fisicoquímicas entre un producto optimizado y un yogur con sabor a fresa comercial. Las variables que se midieron fueron: color, sinéresis, pH, y capacidad antioxidante de yogur.

Análisis estadístico.

Se realizó una prueba T para muestras independientes con una significancia $P < 0.05$ para determinar si existen diferencias entre el tratamiento optimizado y el yogur de fresa comercial de la planta de lácteos Zamorano, utilizando el programa "Statistical Analysis System" (SAS versión 9.4)

Análisis físico-químicos.

Análisis de color. El color se determinó mediante el ColorFlex de Hunterlab®, donde se analizaron los valores L^* , a^* y b^* . donde L^* indica luminosidad, que varía de cero (negro) a 100 (blanco), mientras que, a^* y b^* representan las coordenadas de cromaticidad, en donde $+a^*$ indica tendencia a rojo, $-a^*$ tendencia a verde, $+b^*$ indica tendencia a amarillo y $-b^*$ tendencia a azul. Cada tratamiento fue evaluado por triplicado utilizando 10 ml de muestra de yogur.

Los valores L^* a^* b^* de cada tratamiento se utilizaron para calcular la diferencia total de color de cada tratamiento con respecto al yogur comercial de fresa Zamorano mediante la ecuación 8.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} \quad [8]$$

Delta E (ΔE) es el resultado de la raíz cuadrática de la suma de la diferencia de luminosidad (ΔL), de tono verde-rojo (Δa) y de tono azul-amarillo (Δb) que expresa el diferencial total del color desde un punto "r" de referencia hasta un punto "m" de la muestra. Se empleó como punto de referencia (r), el valor promedio de las determinaciones de los parámetros L^* a^* y b^* del yogur comercial con sabor a fresa.

En la fase 2, se utilizaron los valores de cromaticidad a^* y b^* para calcular el índice de saturación del color (croma) con la ecuación 9 y ángulo de tono (Hue) con la ecuación 10 (Salinas *et al.* 2005).

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad [9]$$

$$\text{Hue} = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \quad [10]$$

Medición de pH. Este análisis se realizó por medio del método estándar de AOAC 981.12 Para medir el pH se pesaron 50 g de yogur en una cubeta de precipitación y la lectura de

acidez se obtuvo mediante el potenciómetro HM digital PH-200 calibrado con soluciones buffer de 4 y 7, el análisis se realizó por triplicado.

Medición de sinéresis. Se pesaron 25 g de muestra en tubos volumétricos y fueron centrifugados a 2200 rpm durante 10 minutos, a 4 °C, utilizando la centrifuga Symphony™ 441. La susceptibilidad a sinéresis del yogur fue calculada como el porcentaje de masa del suero liberado a causa de la centrifugación (Robitaille *et al.* 2009).

Evaluación estabilidad oxidativa del yogur. La estabilidad oxidativa fue evaluada utilizando el Rancimat® 851 se pesaron tres gramos de yogur en tubo Rancimat y se colocaron en la cámara de oxidación del Rancimat, el análisis se realizó por triplicado. La temperatura utilizada en el análisis fue de 120 °C con un flujo de aire constante de 20 L/h, los valores obtenidos fueron reportados como tiempo de inducción en horas. Esta prueba induce a la oxidación de las muestras de aceite mediante la adición constante de oxígeno y con una temperatura alta constante. Con agua destilada y sensores se midió la conductividad eléctrica formada por ácidos volátiles de los tubos de reacción.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización del extracto etanólico de flor de Jamaica.

Color. El extracto etanólico de flor de Jamaica presento una luminosidad de 0.47 (cuadro 5), lo que indica que el extracto presenta una coloración oscura. Según Mathías y Ah (2014) L^* está relacionada con la energía lumínica absorbida o reflejada por un objeto, presentándose blanco al ojo humano al reflejar la totalidad de las ondas mientras que un objeto oscuro las absorbe todas. Salinas *et al.* (2012) indican que los extractos acuosos presentan valores de luminosidad inferiores que los cálices deshidratados, a la vez los autores concluyen que la variable de luminosidad de los extractos está relacionada con la cantidad antocianinas totales, consecuentemente podría utilizarse para estimar esta variable. El valor de cromaticidad a^* para el extracto fue 1.72. este valor es positivo lo que indica que el extracto es clasificado como rojo. Según Prenesti *et al.* (2007), las antocininas son aisladas en medios ácidos donde predomina el catión flavilio que absorbe las longitudes a 502 nm siendo la estructura responsable del color rojo en los extractos acuosos. La cromaticidad b^* del extracto acuoso fue de 0.28 encontrándose entre los colores amarillos y azul.

Cuadro 5. Características físico-químicas del extracto etanólico de la flor de Jamaica.

Color			Concentración de antocianinas (mg/ml)	Solidos solubles (%)	pH
L	a	b			
0.47	1.72	0.28	296	20.10%	2.76

Determinación del pH. El extracto hidroetanólico de los cálices de rosa de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa L*) presentó un pH de 2.76. Salinas *et al.* (2012) mencionan que el pH de los extractos acuosos de los cálices de las ocho variedades de Flor Jamaica varia en el rango de 2.4 a 2.65. Según Sayago y Goñi (2010), la acidez de los extractos de Jamaica está relacionado con la cantidad de ácidos orgánicos presentes en los cálices de Jamaica. El contenido total de ácidos orgánicos en los cálices de 274.5 mg/kg específicamente el ácido succínico y el ácido acético son los que se encuentran en mayor proporción en los cálices de Jamaica (Jung *et al.* 2015).

El pH de los extractos es un factor importante en la estabilidad del color, debido a que modifica la estructura química de las antocianinas (Garzón 2008). En el estudio acerca de

la degradación de antocianinas de extractos acuosos de rosa Jamaica, se pudo observar la influencia significativa del pH en el desplazamiento del equilibrio entre las especies cromóforas de las antocianinas; catión flavilo, base quinoidal, pseudobase carbinol y chalconas, modificándose también la longitud máxima de absorción (Marco *et al.* 2005). Según Galicia *et al.* (2008), la mayor estabilidad del ion flavilio se observa a valor de pH inferiores a 3, a valores altos de pH se pierde un protón y se adquiere una molécula de agua, formándose la pseudobase carbinol. A valores de pH superiores a 7 generan las formas quinoidal de color púrpura que se degradan rápidamente al reaccionar con el oxígeno.

Sólidos solubles totales (°Brix). Los sólidos solubles conforman el 20.1% del extracto etanólico de flor de Jamaica, este resultado concuerda a lo reportado por Abou *et al.* (2011) con 20%. Los °Brix están relacionados con el contenido de sólidos solubles en el extracto y el caso particular de los cálices este se asocian con la presencia de azúcares y ácidos orgánicos. Los monosacáridos como la glucosa y galactosa son los que se encuentran en mayor proporción en los cálices de la rosa de Jamaica (Jung *et al.* 2015). Según Alí (2005) además de la monosacáridos y disacáridos, una fracción importante de los sólidos solubles totales está constituida por polisacáridos solubles principalmente los arabinogalactanos. Naranjo (2013), obtuvo un 6% sólidos solubles en el extracto hidroetanólico al 98%, este valor es bajo en relación al obtenido a este estudio, debido a que los °Brix en los extractos dependerá de factores tales como la relación sólida: líquido, el solvente, las condiciones de extracción, así como también la variedad y las condiciones edafoclimáticas en los lugares donde se estableció el cultivo de rosa de Jamaica (Salinas 2012).

Antocianinas totales. El contenido antocianinas del extracto de flor de Jamaica fue de 296 mg/100 g de cianidina-3-glucosídico. Chicaiza y Flores (2016) reportan 200 mg/ml antocianinas expresada como cianidina-3-glucosídico extraídas de los cálices deshidratados de Jamaica utilizando como solvente agua: metanol y un tiempo de incubación de 6 h. En el estudio realizado por Sotomayor y Vargas (2007) reportan un contenido de antocianinas totales de 300 mg/ml, similar a lo obtenido en este estudio. Las antocianinas le confieren a los extractos de Jamaica el color rojo y la propiedad de ser una fuente natural de antioxidantes. Según Tsai (2002) el 51% de la actividad antioxidante total reportada se debe a la presencia de las antocianinas.

Fase 1. Resultados de la optimización de la estabilidad oxidativa

Diferencia total del color. La variable linear porcentaje de extracto de flor de Jamaica fue significativa con una probabilidad $P < 0.10$ (cuadro 6), demostrando un efecto de aumento en la diferencia de color (ΔE) al incrementar la concentración de extracto acuoso de flor de Jamaica. La variable independiente concentrado de fresa no influye en la diferencia total de color en yogur con sabor a fresa con una $P > 0.10$. No se presentó una interacción entre las variables independientes. El modelo presento un comportamiento predictivo, el coeficiente de determinación (R^2) está por encima de 0.70 en el cual el 97% de los datos se ajustaron al modelo lineal. La falta de ajuste fue no significativa y el F calculado fue mayor que el F tabular.

Cuadro 6. Coeficientes de regresión, probabilidad (P), valor F y R² para la diferencia total de color (ΔE) en el yogur de fresa en función de la concentración de puré de fresa y de Extracto acuoso de flor de Jamaica.

Factor	Coeficiente de Regresión	P
Intercepto	1.55E + 01	9.09E - 06*
X ₁	-2.54E - 01	2.47E - 01
X ₁ ²	1.88E - 01	4.27E - 01
X ₂	2.08E + 00	1.30E - 03*
X ₂ ²	1.48E - 01	5.25E - 01
X ₁ X ₂	2.25E - 01	4.27E - 01
Falta Ajuste	0.884	
R ²	0.9755	
F. calculado	177.5745	
F. tabular	3.29	

* Significativos para una $P < 0.10$; X₁ pure de fresa (%); X₂ extracto de rosa de Jamaica.

La siguiente expresión matemática (ecuación 11) representa el efecto de la adición de extracto de flor de Jamaica y concentrado de fresa en la diferencia de color considerando las variables significativas del cuadro anterior, mediante esta expresión se generó el grafico de superficie repuesta de la figura 2.

$$\Delta E = 15.51 + 2.08 X_2 \quad [11]$$

Los tratamientos presentaron una coloración diferente que el yogur comercial y se observa que la diferencia total de color (ΔE) incrementa con el aumento en el nivel de extracto acuoso de flor de Jamaica, presentado valores ΔE entre 12.7 y 18.9 para los niveles establecidos de porcentaje extracto acuoso de flor de Jamaica (Figura 2). Sin embargo, la adición de concentrado no influye en la ΔE . Al adicionar el extracto con antocianinas extraídas *Trapaeolum tuberosum* al yogur, se muestra diferencia en el color con respecto al control (Inostroza *et al.* 2015). Reyes *et al.* (2015) reportaron valores ΔE de 2.91 al agregar 2.7% de microcapsulas que contienen omega-3 al yogur asentado con respecto al control. En el estudio con axantina (Mezquita *et al.* 2014), reportaron valores ΔE de 1.10 entre el yogur control y el adicionado con axantina. Wallace y Giusti (2008) sustentan que el efecto del incremento en la concentración de antocianinas de 1% a 2% acyladas extraídas de *Berberis boliviana* difieren del yogur de mora utilizado como control, esta tendencia es similar a los resultados obtenidos sin embargo los valores para este estudio fueron superiores debido a que el estándar utilizado como referencia difiere para todos los estudios. Según Charley (2012), un cuerpo presenta generalmente el color de la radiación luminosa que refleja y esto es una función relacionada con las presencias de las moléculas de ciertos grupos funcionales orgánicos que integran sus estructuras químicas, por cada ingrediente de la formulación. Eran de esperarse estos resultados debido a que al aumentar la concentración de extracto de flor de Jamaica se incrementa el contenido de antocianinas, estas moléculas orgánicas contienen grupos cromóforos que afectan la calidad espectral de la luz y por consiguiente el color del material (Mathías y Ah 2014).

Este análisis demuestra que la diferencia de color se ve influenciada por la concentración de extracto utilizado en la formulación, así como también por su origen botánico. El color influye directamente en la aceptabilidad de un producto por el consumidor, debido a esto al momento de realizar nuevas formulaciones se debe asegurar que los productos presenten diferencias mínimas en color, respecto a los productos que ya existen en ese nicho de mercado (Vásquez 2015).

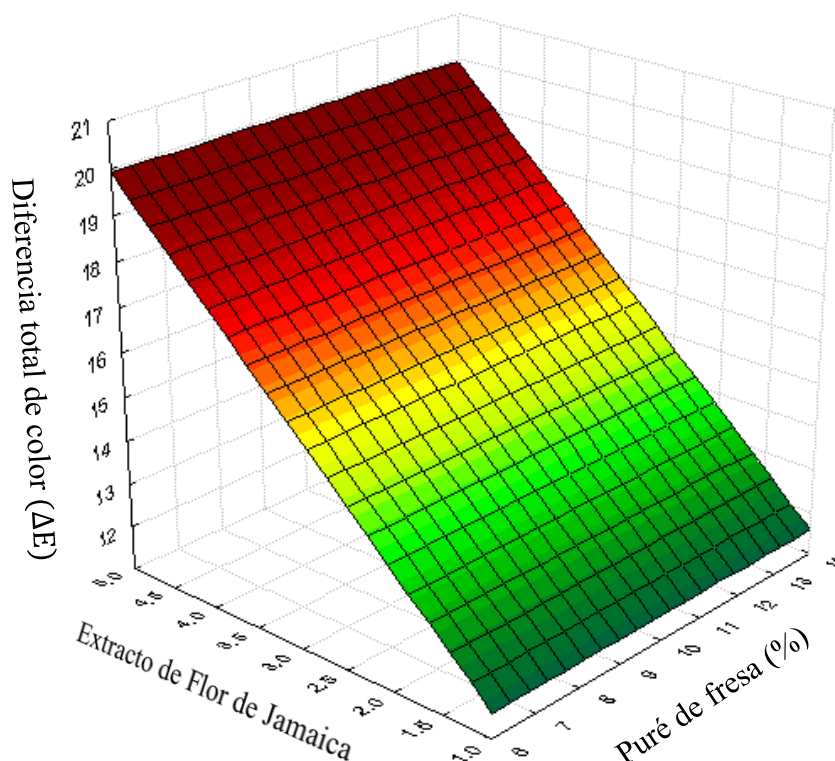


Figura 2. Efecto de la adición de concentrado de fresa y de extracto de flor de Jamaica en el diferencial de color del yogur con sabor a fresa.

Tiempo de inducción. La variable lineal y cuadrática de porcentaje de concentrado de fresa y la variable porcentaje de extracto de flor de Jamaica en ambos niveles (lineal y cuadrática) fueron significativas a una $P < 0.10$ (Cuadro 7), demostrando un aumento en el tiempo de inducción a medida que se incrementa la concentración de concentrado de fresa y la concentración de extracto de flor de Jamaica. La interacción entre ambas variables fue significativa a una $P < 0.10$. Esto indica que el efecto de una variable independiente varía dependiendo del nivel de una segunda variable. El coeficiente de determinación (R^2) señala que un 78% de los datos se ajustaron al modelo lineal. El valor del F calculado fue mayor que el F tabular. La falta de ajuste fue significativa $P < 0.10$, en los modelos de regresión la falta de ajuste nos indica cuando el modelo no puede describir la relación entre las variables independientes y dependientes (De Zan 2006), debido a esto el modelo es clasificado como tendencioso.

Cuadro 7. Coeficientes de regresión, probabilidad (P), valor F y R² para el tiempo de inducción en el yogur de fresa en función de la concentración de puré de fresa y de extracto acuoso de flor de Jamaica.

Factor	Coeficiente de Regresión	P
Intercepto	3.32E - 01	1.99E - 04*
X ₁	4.69E - 02	2.13E - 02*
X ₁ ²	1.29E - 0	1.67E - 03*
X ₂	1.18E - 01	1.55E - 03*
X ₂ ²	1.21E - 01	1.99E - 03*
X ₁ X ₂	-4.50E - 02	5.70E - 02*
Falta Ajuste		9.35E - 03*
R ²	0.7801	
F. calculado	58.5359	
F. tabular	5.25	

* Significativos para una P < 0.10; X₁ pure de fresa (%); X₂ extracto de rosa de Jamaica.

El gráfico de superficie repuesta para la variable estabilidad oxidativa en función de la concentración de puré de fresa y colorante natural, se generó mediante la ecuación 12 que representa un polinomio de segundo grado basado en la variable significativa del cuadro 6

$$\text{Estabilidad oxidativa (días)} = 0.33 + 0.05x_1 + 0.13x_1^2 + 0.12x_2 + 0.12x_2^2 - 0.05 X_1X_2 \quad [12]$$

El tiempo de inducción aumento con el incremento de la concentración de extracto de flor de Jamaica y el porcentaje concentrado de fresa (figura 3). Se observa que con el incremento de concentración del extracto acuoso de flor de Jamaica (EAFJ) y la disminución de concentración de concentrado de fresa se obtiene un incremento en tiempo de inducción alcanzando un valor máximo de 1.6 h, también se muestra que con baja concentración (EAFJ) y una alta concentración de concentrado de fresa se obtiene un tiempo de inducción de 1.4 h. Por otra parte, se observa que al utilizar altas concentraciones de puré de fresa y extracto de flor de Jamaica se muestra un elevado tiempo de inducción 1.5 h. Según Garzón (2008) cuando se alcanzan valores altos de antocianinas, se presentan formas de auto-asociación entre dos cationes Flavilos dos formas hemiacetal e inclusive una base quinoidal y un catión flavilo protegiendo la molécula de antocianina.

Ramos y Zabaleta (2013) en su estudio, empleando el método Déficit radical libre, 2,2-1-picrilhidrazi (DPPH) determinaron que captación de radicales libres en el yogur con aceite esencial de flor de Jamaica en el primer día fue de 100. Tsai *et al.* (2002) afirman que además de las antocianinas hay otros constituyentes con propiedad antioxidante en los cálices de Jamaica, como la quercetina el ácido protocateuico, lo antes mencionado apoyo el supuesto de que el volumen agregado al yogur está influenciando los resultados de los análisis ya que también se modifica la concentración de los demás compuestos. Se muestra que al utilizar entre 2 a 3% de extracto de flor de Jamaica y entre 8 y 10% de puré de fresa,

se obtienen un tiempo de inducción menor 0.15 h , este se debe a que las altas temperaturas y la constante oxidación empleadas en la metodología, promueven la auto oxidación de ión flavilo de las antocianinas generando el radical hidroxilo, que es precursor de oxidación lipídica (Martínez *et al.* 2002). Según, Sotomayor y Vargas (2017) las antocianinas líquidas promovieron la oxidación del aceite al generar radicales libres que aceleran este proceso.

Los valores de OSI aumentaron al utilizar una mayor concentración de pulpa de fresa, la razón de este evento puede atribuirse a que al incrementar la cantidad de puré de fresa se está elevando el contenido de dióxido de azufre utilizado como conservante en el puré de fresa. El dióxido de azufre tiene propiedades reductoras acaparando el oxígeno disponible e impidiendo la oxidación de las grasas (Coultate 2007). Por otra parte, las altas concentraciones de azúcares en el concentrado 49 a 51% ejercen un efecto protector de ion flavilio permitiéndole ejercer un efecto antioxidante a pesar de altas temperaturas.

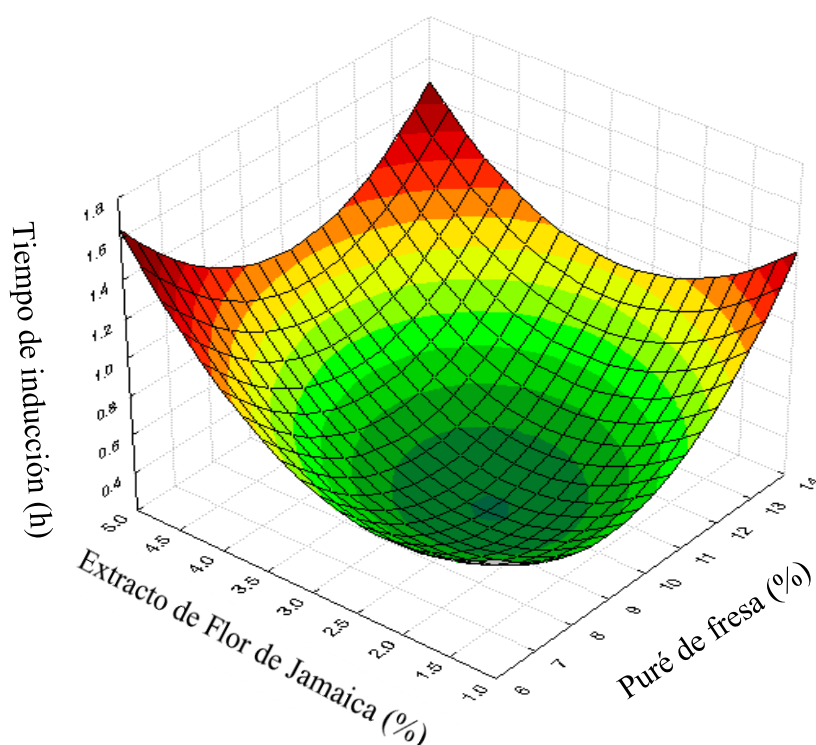


Figura 3. Efecto de la adición de concentrado de fresa y de extracto de flor de Jamaica en el tiempo de inducción en el yogur con sabor a fresa.

Análisis de acidez (pH). La variable lineal de concentrado fue significativa a una $P < 0.10$ (Cuadro 8), de la misma forma la variable extracto acuoso de flor de Jamaica en ambos niveles (lineal y cuadrático) fue significativo a una $P < 0.10$. La interacción entre las variables fue no significativa con una $P > 0.10$. El coeficiente de determinación (R^2) demuestra que un 91% de los datos fueron predichos por el modelo y solo un 9% de los mismos no se pudieron explicar mediante el análisis. El F calculado fue mayor que el F

tabular, sin embargo, la falta de ajuste fue significativa a una $P < 0.10$, debido a la significancia en la falta de ajuste el modelo es clasificado como tendencioso.

Cuadro 8. Coeficientes de regresión, probabilidad (P), valor F y R^2 para el pH, en el yogur de fresa en función de la concentración de puré de fresa y de extracto de flor de Jamaica.

Factor	Coeficiente de Regresión	P
Intercepto	4.14E + 00	0.00 + 00*
X_1	-1.44E - 02	1.88E - 02*
X_1^2	2.79E - 04	9.41E - 01
X_2	-9.54E - 02	7.60E - 05*
X_2^2	2.21E - 02	7.92E - 03*
X_1X_2	8.33E - 04	8.61E - 01
Falta Ajuste		0.009*
R^2	0.9184	
F. calculado	301.2358	
F. tabular	3.4	

* Significativos para una $P < 0.10$; X_1 pure de fresa (%); X_2 extracto de rosa de Jamaica.

La siguiente expresión matemática representa el comportamiento en los valores de pH en base a las variables significativas de (cuadro 8), mediante la ecuación 13 se generó el grafico de superficie repuesta para el pH (Figura 4).

$$\text{pH} = 4.136 - 0.014 X_1 - 0.095 X_2 + 0.022 X_2^2 \quad [13]$$

El pH disminuye con el incrementó en la concentración de concentrado de fresa y extracto acuoso de flor Jamaica alcanzando valores de pH 4.0 (Figura 4), siendo estos resultados similares al estudio realizado por Parra (2015), quien obtuvo valores de 4.1 al agregar 0.6% de cápsulas con colorante encapsulado de remolacha. En el estudio de la fortificación del yogur con fruta provocó la disminución en valores un pH de 4.04, 3.95 y 3.85 entre el control 0% y los yogures fortificados con 15 y 20% de almíbar de mortiño (Zapata *et al.* 2015). Estos valores son más bajos que los reportados en este estudio, debido a que se utilizaron extractos de materias primas distintas y concentraciones en un rango inferior 1 a 4.78%. El estudio realizado por Iwalokun y Shittu (2007), el pH del yogur de fresa fue 4.30 y el yogur de Jamaica obtuvo un pH de 4.11, después de siete días de almacenamiento a 4 °C. Según Rasdhari (2008) el descenso en los valores de pH se debe a la producción de ácido láctico por *Lactobacillus delbreuki sp thehermophilus* durante el almacenamiento y el contenido de ácidos orgánicos impartidos a la matriz del yogur de fresa por el extracto acuoso de Jamaica y del concentrado de fresa reducen el pH durante el almacenamiento. Briceño *et al.* (2001), mencionan que durante el almacenamiento del yogur, la acidez aumenta en condiciones de refrigeración máximo hasta 1.5% expresada en ácido láctico.

Este estudio demuestra que el pH de la matriz de yogur se ve afectado por la adición de puré de fresa y el extracto de flor de Jamaica dentro del rango operacional establecido.

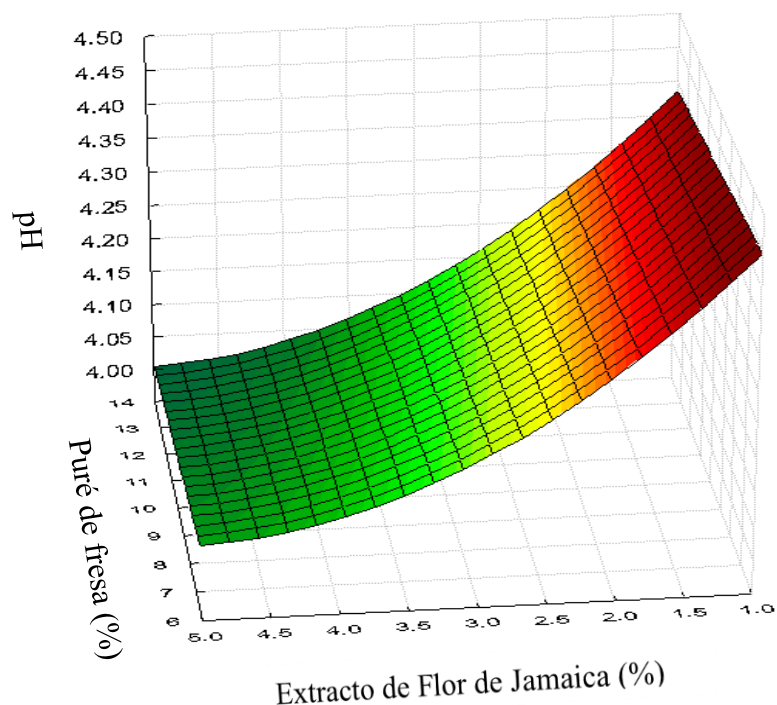


Figura 4. Efecto de la adición de concentrado de fresa y de extracto de flor de Jamaica en los valores de acidez de pH en el yogur con sabor a fresa.

Sinéresis. Las variables concentrado de fresa y extracto de flor de Jamaica fueron significativas a una $P < 0.10$ en ambos términos lineal y cuadrático (Cuadro 9) demostrando un efecto de incremento en los valores de sinéresis a medida que aumentamos el porcentaje de concentrado fresa y extracto de flor de Jamaica. El modelo fue clasificado como tendencioso debido a que la falta de ajuste fue significativa a una $P < 0.10$. El (R^2) fue mayor que 0.70, el 78.8% de los datos fueron predichos por el modelo, y el F tabular fue menor al F calculado.

Cuadro 9. Coeficientes de regresión, probabilidad (P), valor F y R² para la Sinéresis en el yogur de fresa en función de la concentración de puré de fresa y de Extracto acuoso de flor de Jamaica.

Factor	Coeficiente de Regresión	P
Intercepto	4.50E + 00	6.00E – 06*
X ₁	8.10E - 01	3.64E – 04*
X ₁ ²	1.80E + 00	4.70E – 05*
X ₂	1.06E + 00	1.64E – 04*
X ₂ ²	2.88E - 01	1.04E – 02*
X ₁ X ₂	4.36E - 01	6.20E – 03*
Falta Ajuste		5.97E – 04*
R ²	0.788	
F. calculado	433.9357	
F. tabular	5.25	

* Significativos para una P < 0.10; X₁ Pure de fresa (%); X₂ Extracto de rosa de Jamaica.

La ecuación 15 representa los valores de sinéresis en base a las variables significativas del cuadro anterior, mediante esta ecuación se generó el grafico de superficie repuesta de la figura 5.

$$4.500 + 0.810X_1 + 1.804X_1^2 + 1.058 X_2 + 0.288 X_2^2 + 0.436 X_1X_2 \quad [15]$$

Los valores de sinéresis después de tres días de almacenamiento variaron entre 3.95 y 19% (Figura 5), se observa que la sinéresis aumenta con el incremento en el concentrado de fresa y extracto de flor de Jamaica. Los valores de sinéresis después de cinco días de almacenamiento fueron 49% para un yogur con colorante de remolacha encapsulado y 43% para el yogur sin cápsulas con colorantes (Parra 2015). Rasdhari *et al.* (2008), reportaron valores de sinéresis para el yogur con prebióticos de 18 y 24% utilizando 1 y 2% de extracto acuoso de cálices secos de flor de Jamaica respectivamente. Este comportamiento concuerda con el estudio, sin embargo, los valores reportados difieren en ambos debido a la diferencia en la formulación y en las materias primas utilizadas para la elaboración del yogur. Esta tendencia es atribuida a dos efectos; al mezclar la fruta con la base de yogur se genera una fuerza de cizalla que rompe el gel en trozos, generando la pérdida de lactosuero retenido en la red tridimensional de proteína (Early 2000). Por otra parte, el aumento en la sinéresis puede ser explicado por el descenso de pH durante el almacenamiento, al aumentar la concentración de concentrado de fresa y extracto acuoso de flor de Jamaica, debido fundamentalmente a cambios en el pH en la matriz del yogur que inducen a la reorganización de red proteica que da lugar a aumento en número de uniones entre las partículas. Debido a esto la red proteica tiende a contraerse y expulsar el líquido intersticial que encierra.

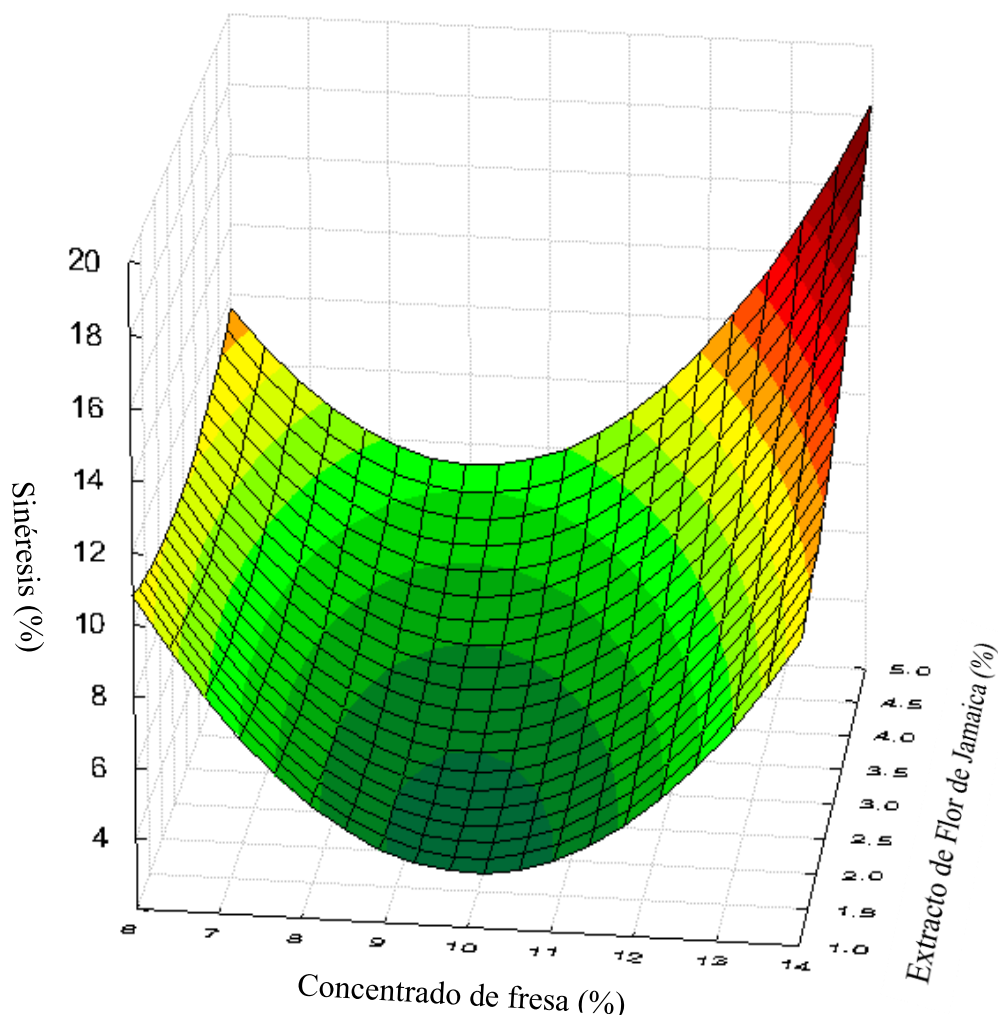


Figura 5. Efecto de la adición de concentrado de fresa y de extracto de flor de Jamaica en los valores de sinéresis en el yogur con sabor a Fresa.

Función de utilidad. Se utilizó un procedimiento de optimización con restricción, asignando un valor de 1 si la repuesta era la deseada, y para la repuesta no deseada se asignó un valor de 0. Para diferencia de color, sinéresis y pH se estableció valores y para tiempo de inducción los mayores. Los parámetros de procesamiento que optimizan la respuesta en el rango estudiado fueron 12.264 y 2.389 para concentración de concentrado de fresa y extracto de flor de Jamaica respectivamente figura 6.

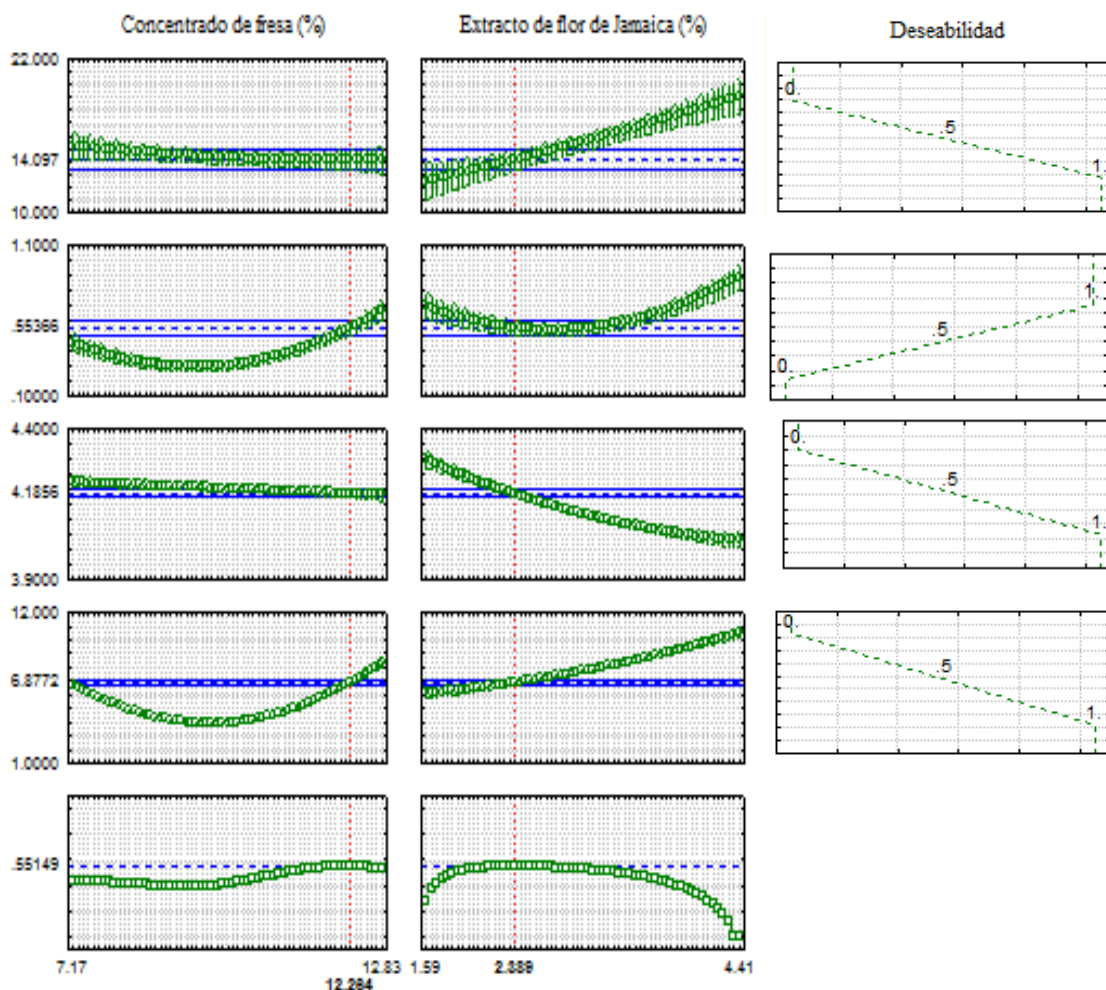


Figura 6. Función de utilidad para determinar la concentración óptima de concentrado de fresa y extracto de flor de Jamaica.

Fase 2. Resultados de la comparación entre el tratamiento optimizado y un yogur comercial de fresa.

Color. Los tratamientos no presentaron diferencias significativas en luminosidad (L^*) (cuadro 10). La luminosidad en el yogur con extracto de Jamaica fue de 73.114 y para el yogur control fue 73.144, estos valores concuerdan con los obtenidos por Reyes *et al.* (2015) quienes reportan valores de luminosidad en un rango de 70 a 79 en el yogur de fresa fortificado con microcápsulas de omega 3. El yogur con extracto de Jamaica presentó un ángulo de tono (15.333 ± 0.577) y un valor de croma de 15.866 ± 0.055 . Ambos valores difieren significativamente a los obtenidos por el yogur control con un ángulo de tono de 10.333 ± 1.155 y un croma 27.603 ± 0.366 . Esta diferencia se atribuye al poder de tinción de los colorantes sintéticos que es mayor al de los colorantes naturales. Esto representa una desventaja en cuanto a costo ya que se necesitaría una mayor cantidad de colorante natural para obtener el mismo grado de pigmentación en una misma matriz alimenticia.

Cuadro 10. Color en el yogur con extracto de flor de Jamaica y en el yogur de fresa comercial.

Tratamiento	Media $\pm$ D.E		
	L*	Hue	Croma
Control	73.72 $\pm$ 0.395	10.333 $\pm$ 1.155*	27.603 $\pm$ 0.366*
Yogur con extracto	73.14 $\pm$ 0.117	15.333 $\pm$ 0.577*	15.866 $\pm$ 0.055*

*Diferencias significativas $P < 0.05$

Tiempo de Inducción. El yogur con extracto de Jamaica obtuvo un mayor tiempo de inducción 0.423 ± 0.195 que el yogur control 0.100 ± 0.0752 (cuadro 11). El tiempo de inducción se relaciona con la resistencia a oxidarse de las grasas y aceites. Sánchez *et al.* (2013), evaluaron la oxidación lipídica de una bebida láctea con extracto de Curuba (*Passiflora mollissima* Bailey) al 0, 0.4, 0.6 y 0.8%, mediante el método sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), concluyendo que con la adicción de extractos de curuba se incrementa la capacidad antioxidante y se inhibe la oxidación lipídica en la bebida láctea con respecto al control. Esto se atribuye a la actividad antioxidante de las antocianinas y de los compuestos fenólicos presentes en el extracto de flor de Jamaica.

Por otra parte, los conservantes utilizados para la elaboración del concentrado de fresa como sulfitos o ácido ascórbico tienen efectos reductores lo que podría incrementar el tiempo de inducción. Según Cubero *et al.* (2002), los antioxidantes fenólicos pueden frenar dos reacciones de oxidación; primero sediento el protón que contienen y una vez e forma de radical se combina con radicales peroxi o álcali estabilizándolos o inactivándolos.

Estos resultados demuestran que los extractos de Jamaica pueden retardar la oxidación lipídica en productos lácteos de baja acidez y a la vez se podría contribuir con la ingesta de compuestos bioactivos de los consumidores.

Cuadro 11. Tiempo de Inducción en el yogur con extracto de flor de Jamaica y el yogur de fresa comercial.

Tratamiento	Tiempo de Inducción
	Media $\pm$ DE
Control	0.100 $\pm$ 0.010*
Yogur con Extracto	0.423 $\pm$ 0.093*

* Diferencia Significativa entre tratamientos $P < 0.05$.

pH. El yogur con extracto de Jamaica presentó una disminución significativa en el pH con respecto al yogur control, se observa que el pH para el tratamiento control fue 4.486 ± 0.05 mientras que para tratamiento optimo fue de 4.246 (cuadro 12). Los ácidos orgánicos presentes en el extracto de Jamaica y el puré de fresa disminuyen el pH en los productos lácteos (Charley 2012). La disminución de los valores de pH puede atribuirse a que, durante el almacenamiento en condiciones de refrigeración, ocurrió una actividad microbiana por parte de las bacterias ácido lácticas presentes en el yogur (Lubbers *et al.* 2004). Según Early

(2000), el pH del yogur con fruta debe ser inferior 4.5 para evitar la proliferación de *Clostridium botulinum*, se muestra que ambos tratamientos cumplieron con este parámetro.

Cuadro 12. pH en el yogur con extracto de flor de Jamaica y el yogur comercial de fresa.

Tratamiento	pH
	Media $\pm$ DE
Yogur comercial	4.486 $\pm$ 0.005*
Yogur con extracto de Jamaica	4.425 $\pm$ 0.007*
Diferencia Significativa entre tratamientos $P < 0.05$.	

Sinéresis. La sinéresis en el yogur con extracto de Jamaica fue inferior 6.963 ± 1.158 en contraste con el yogur control 8.350 ± 0.574 (cuadro 13). Sin embargo, no hay diferencias significativas entre tratamientos a una $P > 0.05$. Lo anterior concuerda con lo reportada con Estrada (2011) que obtuvo un valor de sinéresis de 43.07 ± 7.02 y 40.01 ± 2.08 en el yogur control y el yogur de fresa fortificado con microcapsulas de ácidos grasos, estos valores son mayores a los resultados obtenidos por este estudio esta diferencia se atribuye al método empleado para realizar el análisis.

Cuadro 13. Sinéresis en yogur con extracto de flor de Jamaica y en comercial de fresa.

Tratamiento	Media $\pm$ DE
Yogur comercial Fresa	8.350 $\pm$ 0.574
Yogur con extracto de Jamaica	6.963 $\pm$ 1.158

4. CONCLUSIONES

- La combinación de 12.28 y 2.38% de puré de fresa y extracto etanólico de flor de Jamaica respectivamente optimizan la estabilidad oxidativa y los atributos tecnológicos del yogur de fresa.
- A medida que se incrementa la concentración de extracto de flor de Jamaica aumenta la diferencia de color hasta 18.3 al utilizar 4.4% de extracto de flor de Jamaica. La concentración de concentrado de fresa no influye en la diferencia de color.
- La adición de extracto de Jamaica y concentrado de fresa en el tratamiento optimizado genera un tiempo de inducción de 0.42, menor pH 4.25, un croma de 15.86, un ángulo de tono 15.333 y un porcentaje sinéresis de 6.96.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar un análisis sensorial de aceptación al yogur de fresa con extracto de Jamaica optimizado.
- Realizar un análisis proximal completo al yogur de fresa elaborado con 12.83% de concentrado de fresa y 2.38% extracto de Jamaica.
- Evaluar la actividad antioxidante del yogur optimizado y compararla con las antocianinas encapsuladas mediante el método 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl.
- Evaluar la estabilidad del color del yogur de fresa con extracto de Jamaica durante el periodo de almacenamiento y comparar con la de las antocininas encapsuladas y el yogur comercial de fresa.

6. LITERATURA CITADA

Abou AA, Abu FM, Abou EA. 2011. Physicochemical properties of natural pigments (anthocyanin) extracted from roselle calyces (*Hibiscus subdariffa*). J. Am. Sci. [consultado 2017 sep 25]. 7(1):445–456. http://jofamericanscience.org/journals/am-sci/am0707/067_6293am0707_445_456.pdf.

Ali BH Wabel NA, Blunden G. 2005. Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L. A review. Rev NBCB. 19:369-375. doi: 10.1002/ptr.1628.

Anzueto CF. 2017. Tendencias en ingredientes. Rev industria y alimentos. [consultado 2017 sep25].<http://www.revistaindustriayalimentos.com/ediciones/abriljunio2017/mobile/index.html#p=1>.

AOAC 981.12. 1982. “Official Methods of Analysis 18th Edition”, Arlington. Virginia, Estados Unidos.

AOAC. 2013. Official Method 932.12 Solids (Soluble) in Fruits and Fruit Products Refractometer Method. Washington DC (EE.UU). AOAC.

Briceño A, Martínez R, García K. 2001. Viabilidad y actividad de la flora láctica (*Streptococcus salivarius* ssp *thermophilus* y *Lactobacillus* del *brueckii* ssp *bulgaricus*) de yogur en Venezuela. Rev Acta Científica Venezolana 52(1):46-54. doi: 11510428.

Carmona I. 2013. De colorantes sintéticos a naturales en la industria alimentaria. Santiago-Chile. [consultado 2017 oct 15]. <http://www.agrimundo.cl/?publicacion=de-colorantes-sinteticos-a-naturales-en-la-industria-alimentaria>.

Castañeda A, Guerrero JA. 2015. Pigmentos en hortalizas y frutas rojas: antocianinas. Rev Temas selectos en ingeniería de alimentos. Puebla- México. [consultado 2017 oct 15]. <http://web.udlap.mx/tsia/files/2016/05/TSIA-9-Castaneda-Sanchez-et-al-2015.pdf>

Cevallos MG. 2015. Procesamiento de la flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) desecado para la preparación de yogur y bebida con altas propiedades nutraceuticas [Tesis]. Universidad de Guayaquil-Ecuador. 82 p.

Charley H. 2012 Tecnología de alimentos procesos químicos y físicos en la preparación de alimentos. 1th ed. Nuevo León (Mex): Editorial Limusa. 768 p.

Chicaiza VG, Flores EA. 2016. Evaluación de extracción, encapsulación y capacidad antioxidante de las antocianinas de la flor de Jamaica *Hibiscus sabdariffa* L [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 34 p.

Coulter TP. 2007. Manual de química y bioquímica de alimentos. 3th ed. Zaragoza (ESP): ACRIBIA S.A. 446 p.

Cubero N, Monferrer A. Villalta J. 2002. Aditivos alimentarios. Madrid: Editorial Mundo Prens. 236 p.

De Zan AT. 2006. Diseño experimentales secuenciales para modelos logísticos de regresión. Rev colombiana de estadística. 31(2):261-291. doi: 10.15446/rce

Early R. 2000. Tecnología de los productos lácteos. 2th ed. Zaragoza (España): Editorial Acribia. 459 p.

Estrada JD, Boeneke C, Bechtel P, Sathivel S. (2011). Developing a strawberry yogurt fortified with marine fish oil. Journal of Dairy Science-Estados Unidos. 94(12):5760-5769. doi: 10.3168/jds.2011-4226.

Galicia LA, Salinas Y, Espinoza BM, Sanchez C. 2008. Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada. Chapingo Ser. Hortic. [consultado 2017 sep 10]. 14(2):121-129. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027152X2008000200004&lng=es&nrm=iso.

Garzón G. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. Acta Biol Colomb [consultado 2017 sep 02]. 13(3):27-36. <http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v13n3/v13n3a2.pdf>.

Inostroza LA, Castro AJ, Hernández EM, Carhuapoma M, Yuli RA, Collado A, Cordova JS. 2015. Actividad antioxidante de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón (mashua) y su aplicación como colorante para yogurt. Rev Ciencia e Investigación, 18(2): 83-89, 1609-9044. <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/13615/12021>.

Iwalokun, BA, Shittu MO. 2007. Effect of *Hibiscus sabdariffa* (Calyce) extract on biochemical and organoleptic properties of yoghurt. Pakistan Journal of Nutrition. [consultado 2017 sep 05]. 6(2): 172-182. <http://docsdrive.com/pdfs/ansinet/pjn/2007/172-182.pdf>.

Jung E, Kim Y, Joo N. 2013. Physicochemical properties and antimicrobial activity of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). J. Sci. Food Agric. 93(1):3769-3776. doi: 10.1002/jsfa.6256.

Lubbers S, Decourcelle N, Vallet N, Guichard E. 2004. Flavor release and rheology behavior of strawberry fat free stirred yogurt during storage. *J Agric Food Chem.* 52(10):3077–3082. doi: 10.1021/jf0352374.

Marco PH, Levi MA, Scarminio IS, Poppi RJ, Trevisan MG. 2005. Exploratory analysis of simultaneous degradation of anthocyanins in the calyces of flowers of the *Hibiscus sabdariffa* species by PARAFAC model. *J Analytical Sciences*. [consultado 2017 sep 28] 21(1):1523-1527. https://www.jstage.jst.go.jp/article/analsci/21/12/21_12_1523/_pdf.

Martínez S, Gonzáles J, Culebras J, Tuñón M. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Rev Nutrición Hospitalaria*. [consultado 2017 23 sep] 17(6):271-278. https://www.researchgate.net/profile/Javier_GonzalezGallego/publication/10961859_Flavonoids_Properties_and_antioxidizing_action/links/0deec52a6b0057f327000000/Flavonoids-Properties-and-antioxidizing-action.pdf.

Mathias K, Ah K. 2014. El color en los alimentos un criterio de calidad medible. *Rev Agro Sur* 42(2): 39-48. doi:10.4206/agrosur.2014.v42n2-07.

Mezquita P, Barragan BE, Palma J, Ortiz C. 2014. Stability of astaxanthin in yogurt used to simulate apricot color, under refrigeration. *J Food Sci Technol.* 34(3):559-565. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.6386>

Naranjo AA. 2013. Evaluación de la actividad diurética y cuantificación de polifenoles de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) cultivada en Pomona Pastaza-Ecuador [Tesis]. Escuela superior politécnica de Chimborazo-Ecuador. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2693>.

Ordoñez IB, Saavedra RB. 2016. Extracción y uso del colorante natural de la flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) como alternativa para la elaboración de salchicha y yogurt [Tesis]. Universidad de Cuenca-Ecuador. 157 p.

Ortiz MA, Reza MC, Chew RG, Meza J. 2011. Propiedades funcionales de las antocianinas. *Rev Bio Tecnia*. [consultado 2017 oct 10]. 13(2):16-22. https://www.researchgate.net/publication/283361581_Propiedades_funcionales_de_las_antocianinas.

Parra RA. 2015. Características fisicoquímicas y microbiológicas de yogurt a partir de colorante de remolacha (*Beta vulgaris* L.) encapsulado. *Rev Uninpanplona*. 13(1):20-27 doi: <https://doi.org/10.24054/16927125.v1.n1.2015.1463>.

Patricio JI. 2012. Características químicas de la flor de Jamaica para su uso en la industria alimentaria [Tesis]. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro-México- 38 p.

Prenesti E, Berto S, Daniele PG, Toso S. 2007. Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of *Hibiscus Sabdariffa* flowers. Food Chem. 100: 433-438. doi:10.1016/j.foodchem.2007.09.063.

Ramos KP, Zabaleta KS. 2013. Elaboración de un yogur estandarizado con adición de *Hibiscus sabdariffa* L flor de Jamaica, con propiedad funcional antioxidante [Tesis]. Universidad de Cartagena-Colombia. 50 p.

Rasdhari M, Parekh T, Dave N, Patel V, Subhash R. 2008. Evaluation of various physico-chemical properties of *Hibiscus sabdariffa* and *L. casei* incorporated probiotic yoghurt. Pakistan J Biol Sci 11(17):2101–2108.

Reyes A. Salinas Y, Ovando ME, Arteaga RI, Martínez MD. 2015. Análisis de ácidos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de variedades de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) con cálices de diversos colores. Agrociencia. [citado 2017 oct 05] 49: 277-290. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952015000300004&lng=es&nrm=iso.

Robitaille, G., Tremblay, A., Moineau, S., St-Gelais, D., Vadeboncoeur, C. y Britten, M. (2009). Fat-free yogur made using a galactose-positive exopolysaccharideproducing recombinant strain of *Streptococcus thermophilus*. Journal of Dairy Science, 92(2), 477e482. Recuperado de <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2008-1312>.

Rocha G. 2009. Obtencao e caracterizao de films biodegradáveis a partir de misturastamidde amndioca e extrato protéico de soja [Tesis]. Programa de pos-graduación en Ciencias e Tecnologia de Alimentos, Rio de Janeiro, Brasil, Universidad Federal Rural do Rio de Janeiro. 70 p.

Salinas Y, Rubio D, Díaz A. 2005. Extracción y uso de pigmentos del grano de maíz (*Zea mais* L.) como colorantes en yogur. . Rev. Chapingo serie Hortic. 55(3): 293-8.

Salinas YA, Zúñiga LB, Jiménez V, Serrano Y, Sánchez C. 2012. Color en cálices de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa* L.) y su relación con características fisicoquímicas de sus extractos acuosos. Rev. Chapingo serie Hortic. 18: 395-407.

Sánchez NY, Sepúlveda JU, Rojano AB. 2013. Desarrollo de una bebida láctea con extractos de curuba (*Passiflora mollissima* Bailey) como antioxidante natural. Rev Acta Bio Colomb.[Consultado 2017 sep15].<http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n1/v11n1a20.pdf>.

Sayago SG, Goñi I. 2010. Hibiscus sabdariffa L: Fuente de fibra antioxidante. Rev Archivos Latinoamericanos de Nutrición. [Consultado en 2017 agosto 25]. 60(1): 79-84. http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222010000100012

Sotomayor MF, Vargas DA. 2017. Optimización de extracción y microencapsulación de antocianinas de flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) mediante Spray-drying para

evaluación de la capacidad antioxidante. [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 49 p.

Sumaya MT, Medina RE, Machuca MI Jimenez E, Bolois Rosendo, Sanchez LM. 2014. Potencial de la Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en la elaboración de alimentos funcionales con actividad antioxidante. Rev Mexicana de Agronegocios. [consultado 2017 sep 24]. 17(35):1082-1088. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=14131676017>.

Tsai PJ, J. Macintosh PP, Camden B, Jordan B. R. 2002. Anthocyanin and antioxidant capacity in roselle (*Hibiscus Sabdariffa* l.) extract. Rev Food Sci. [consultado 2007 sep 21] 35:351-356.
<http://scihub.cc/http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996901001296>.

Vásquez P. 2015. Efecto de la combinación de luz ultravioleta y temperatura en el procesamiento de leche y derivados [Tesis]. Universidad de Buenos Aires-Argentina. 145 p.

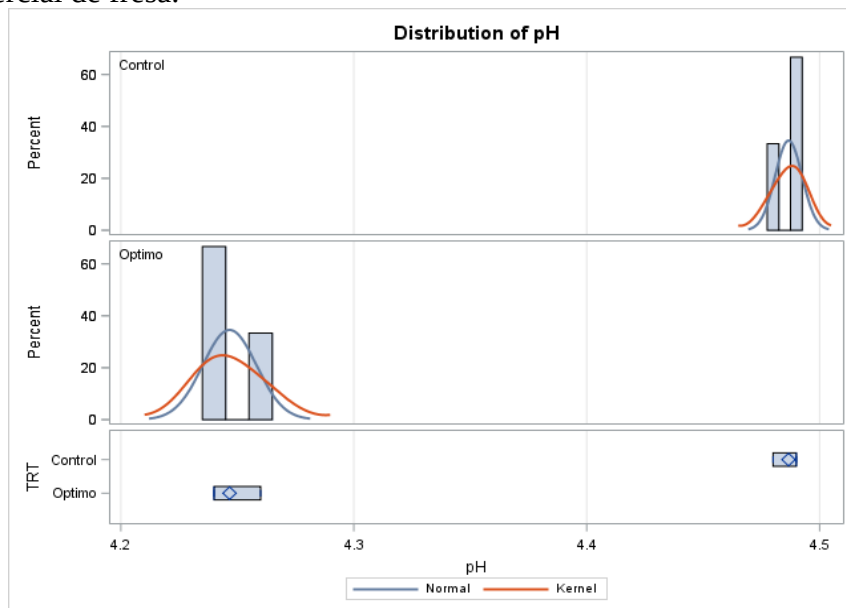
Wallace TM, Giusti MM. 2008. Determination of color pigment, and phenolic stability in yogurt systems colored with nonacylated anthocyanins from *Berberis boliviana* as compared to other natural/synthetic colorants. J food sci. 73(1): 241-248 doi: 10.1111/j.1750-3841.2008.00706.x

Walstra P, Geurts TJ, Nooen A, Jellema, Van Boekel MA. 2001. Ciencia de la leche y tecnología de productos lácteos. 1th ed. Editorial Acribia. 730 p.

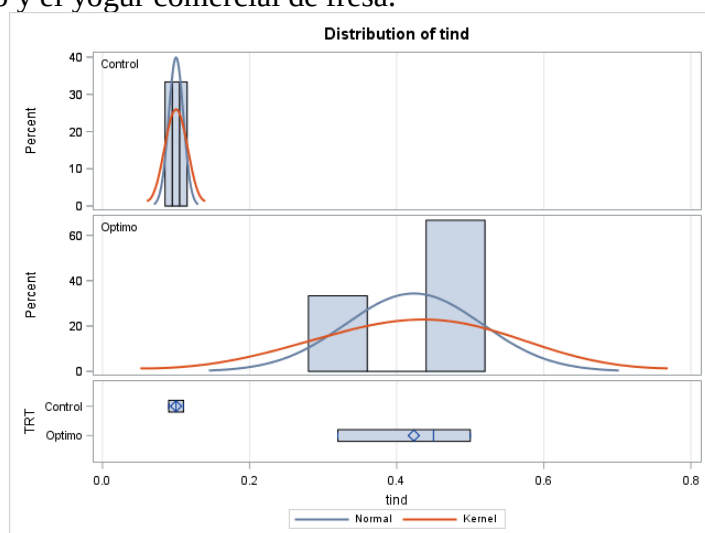
Zapata IC, Sepúlveda U, Rojano BA. 2015. Efecto del tiempo de almacenamiento sobre las propiedades fisicoquímicas, probióticas y antioxidantes de yogur saborizado con mortiño (*Vaccinium meridionale* Sw). Rev Inf Tecnol. 26(2):17-28
<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642015000200004>

7. ANEXOS

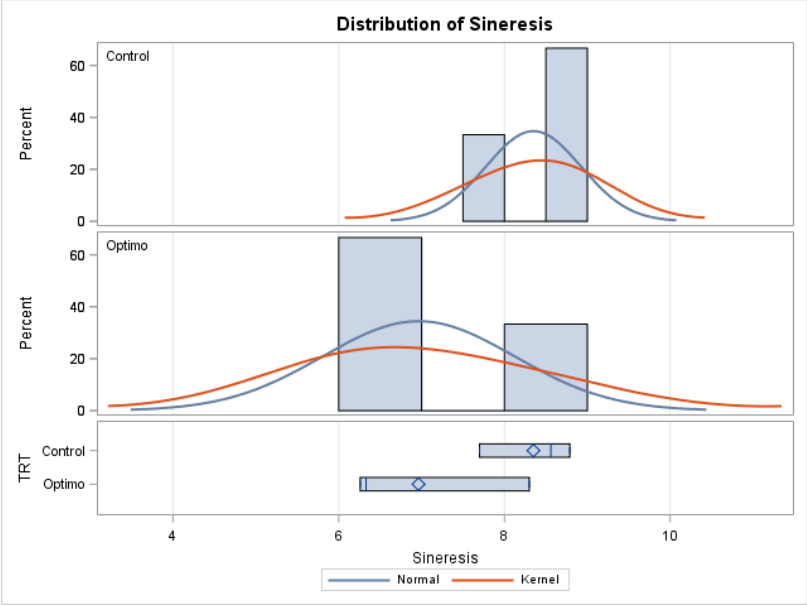
Anexo 1. Distribución de los valores pH de la prueba T student en el yogur optimizado y el yogur comercial de fresa.



Anexo 2. Distribución de los valores de tiempo de inducción de la prueba T student en el yogur optimizado y el yogur comercial de fresa.



Anexo 3. Distribución de los valores de sinéresis de la prueba T student en el yogur optimizado y el yogur comercial de fresa.



Anexo 4. Distribución de los valores de luminosidad (L) de la prueba T student en el yogur optimizado y el yogur comercial de fresa.

