UNIVERSIDAD PERUANA DE CIENCIAS APLICADAS

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA ACADÉMICO DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA

Evaluación del efecto de la incorporación de *Camellia sinensis* L. (té verde) sobre el contenido de flavonoides, capacidad antioxidante y aceptación sensorial de un yogurt probiótico.

TESIS

Para optar el título profesional de Licenciado en Nutrición y Dietética

AUTORES

Canale Vásquez, Alessandra (0000 0003 3538 6647)

Michilot Soto, Tamara (0000 0001 5642 7482)

ASESORA

Zegarra Samamé, Saby Inés (0000 0002 7472 3493)

CO-ASESOR

Alcántara Estela, Roberto Hugo (0000 0003 2028 631X)

Lima, 24 de julio de 2019

AGRADECIMIENTOS

El presente proyecto fue realizado en el Centro de Investigación e Innovación de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC). La instrumentación y materiales utilizados en el presente proyecto fue adquirida gracias al financiamiento de Innóvate Perú y UPC mediante Convenio 382-PNICP-PIBA-2014 y FONDECYT con convenio 154-Fondecyt.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el efecto de la incorporación de *Camellia sinensis* L. (2%, 4% y 6% de extracto de té verde) sobre el contenido de compuesto fenólicos, capacidad antioxidante y aceptación sensorial de un yogurt probiótico.

Material y métodos: Estudio experimental de laboratorio dónde se elaboró un yogurt probiótico con té verde añadido en distintas concentraciones de 2%, 4% y 6%. Además, se evaluó la aceptabilidad sensorial y se analizó las características físicoquímicas de cada muestra. Asimismo, para determinar el contenido de polifenoles se utilizó el método de Folin-Ciocalteu y, el método de DPPH (2,2-difenil-1-1-picrilhidrazilo) para determinar la capacidad antioxidante. **Resultados:** Se encontró que en el yogurt probiótico con 6% de té verde añadido había 1.64 mg/mL de contenido de polifenoles, casi el triple del contenido de polifenoles que en el yogurt probiótico con 2% de té verde añadido. Además, se encontró que el yogurt con mayor porcentaje de té verde añadido (6%) obtuvo 61% de decoloración del reactivo de DPPH, lo que nos indica mayor capacidad antioxidante a comparación de las muestras con menor porcentaje de té verde añadido. **Conclusión:** A mayor contenido de compuestos fenólicos, mayor es la capacidad antioxidante de un yogurt probiótico con té verde añadido, además de ser el que mayor aceptabilidad sensorial alcanzó, siendo su olor y sabor los atributos más apreciados por los panelistas no entrenados quienes le otorgaron un puntaje de 4 en una escala hedónica de 5 puntos, lo que equivale a un “le gusta moderadamente”.

Palabras clave: *té verde; Camellia sinensis* L.; yogurt probiótico; flavonoides; capacidad antioxidante; aceptabilidad sensorial; alimento funcional.

Evaluation of the effect of the incorporation of *Camellia sinensis* L. (green tea) on the flavonoid content, antioxidant capacity and sensory acceptance of a probiotic yogurt

ABSTRACT

Objective: To evaluate the effect of *Camellia sinensis* L. (2%, 4% and 6% of green tea extract) incorporation on the content of phenolic compounds, antioxidant capacity and sensory acceptance of a probiotic yogurt. **Material and methods:** In this experimental laboratory study, probiotic yogurt with added green tea was elaborated using three concentrations of green tea extract (2%, 4% and 6%), and the sensory acceptability and the physical-chemical characteristics were determined for each concentration. Likewise, to determine the content of polyphenols, the Folin-Ciocalteu method was used, and the DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) was used to determine the antioxidant capacity. **Results:** It was found that in the probiotic yogurt with 6% green tea extract added there was 1.64 mg / mL of polyphenol content, almost triple the polyphenol content than in the probiotic yogurt with 2% green tea added. In addition, it was found that the yogurt with the highest percentage of green tea added (6%) obtained 61% discoloration of the DPPH reagent, which indicates greater antioxidant capacity compared to samples with a lower percentage of green tea added. **Conclusion:** The higher the content of phenolic compounds, the greater the antioxidant capacity of a probiotic yogurt with green tea added, besides being the one with the highest sensory acceptability, its smell and taste were the attributes most appreciated by the untrained panelists who gave it a score of 4 on a hedonic scale of 5 points, which is equivalent to a "moderately like".

Keywords: *green tea; Camellia sinensis* L.; *probiotic yogurt; flavonoids; antioxidant capacity; sensory acceptability; functional food.*

TABLA DE CONTENIDOS

1. Introducción.....	9
2. Objetivos.....	11
3. Materiales	12
4. Métodos	14
5. Resultados.....	25
6. Discusión	38
7. Conclusiones.....	41
8. Limitaciones	42
9. Fortalezas.....	42
10. Referencias	43
11. Anexos	48

ÍNDICE DE TABLAS

1. Formulación del yogurt probiótico	16
2. Formulaciones de yogurt con diferentes % de extracto de té verde.....	16
3. Capacidad antioxidante del estándar – Trolox	31
4. Pruebas de normalidad.....	31
5. Rangos promedios de Friedman.....	32
6. Análisis de varianza por rangos de Friedman.....	32
7. Análisis de varianza por rangos de Friedman.....	32
8. Estadístico de Prueba de Wilcoxon.....	33
9. Contraste de grupos homogéneos.....	33
10. Análisis de varianza por Rangos de Friedman.....	34
11. Estadístico de Prueba de Wilcoxon.....	34
12. Contraste de grupos homogéneos.....	34
13. Analisis de varianza por Rangos de Friedman.....	35
14. Estadístico de Prueba de Wilcoxon	35
15. Contraste de grupos homogéneos	36
16. Características físicoquímicas de las muestras de yogurt probiótico y té verde.....	36
17. Análisis proximal del yogurt probiotico con 6% de té verde añadido.....	37
18. Composición microbiológica del yogurt probiotico con 6% de té verde añadido.....	37
19. Composición de bacterias acido-lácticas del yogurt probiótico con 6% de té verde añadido.....	37

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Diagrama de flujo de la elaboración de un yogurt probiótico.....	5
2. Diagrama de flujo de la elaboración de un yogurt probiótico con té verde añadido	7
3. Preparación de tubos muestras	18
4. Preparación de curva estándar	19
5. Preparación de tubos muestras de yogurt probiótico.....	20
6. Preparación de tubos muestras de té verde	21
7. Proporciones acumuladas P-P para atributo color	48
8. Proporciones acumuladas P-P para atributo olor	48
9. Proporciones acumuladas P-P para atributo sabor	48
10. Proporciones acumuladas P-P para atributo consistencia	48
11. Cuantiles normales Q-Q para atributo color.....	49
12. Cuantiles normales Q-Q para atributo olor	49
13. Cuantiles normales Q-Q para atributo sabor	49
14. Cuantiles normales Q-Q para atributo consistencia	49

1. INTRODUCCIÓN

Dentro de la familia Theaceae se encuentra la planta *Camellia sinensis* L., a partir de la cual se produce el té verde. Este producto es conocido por su contenido de cafeína natural y compuestos fenólicos (1). De esta planta se pueden obtener varios tipos de té a raíz de distintos procesos. Por ejemplo el té negro resulta de la fermentación de la hoja, el té oolong de la semi fermentación y el té verde proviene de la hoja no fermentada. (2) Este último está compuesto entre un 15% a 20% en seco de proteínas, de las cuales se le atribuye un 1% a 4% de aminoácidos. Además, entre un 5% a 7% de carbohidratos y un 5% de oligoelementos en seco. En promedio, las hojas frescas contienen entre un 3% a 4% de alcaloides conocidos como cafeína, teobromina y teofilina. Asimismo, contiene polifenoles, los cuales representan hasta un 30% del peso en seco. (3) Dentro de los cuales están los flavonoides y estos se subdividen en flavonoles, flavonas y flavanonas. El contenido de polifenoles, tanto cuantitativo como cualitativo, depende de cada especie vegetal, pero las plantas con mayor cantidad de polifenoles son el cacao, la manzana, la uva y el té. (51)

Los polifenoles son el grupo más grande de sustancias no energéticas que se encuentran en alimentos de origen vegetal (4). Tienen grandes propiedades antioxidantes las que les otorgan muchos efectos beneficiosos. El cuerpo humano tiene un sistema de defensa propio contra la oxidación de radicales libres que se basa en enzimas antioxidantes, pero estas no son lo suficientemente efectivas para evitar el daño total que se produce. Por ello, se recomienda que las personas consuman alimentos ricos en antioxidantes, como el té verde (5). Este considerado un alimento funcional debido a su gran cantidad de compuestos fenólicos, específicamente el grupo de catequinas, sub grupo de flavonoides (6,7), que contribuyen en diversas actividades biológicas del ser humano , tales como efectos anticancerígenos, antivirales, antialérgicos, antiinflamatorios e inmunoestimulantes (7). Con respecto a los efectos antiinflamatorios, los compuestos fenólicos son capaces de inhibir la biosíntesis de prostaglandinas y con ello, el proceso

inflamatorio que sucede al desencadenarse una enfermedad cardiovascular (46). Asimismo, se evidencia que, los compuestos fenólicos ejercen una capacidad antioxidante que provee a nuestro cuerpo efectos vasodilatadores y vasoprotectores que favorecen a la circulación en el sistema cardiovascular. Además, ejercen efectos antiescleróticos y antitrombóticos debido a que los flavonoides poseen gran capacidad para neutralizar a los radicales libres y con ello, generar menos de estos (45). En cuanto a los efectos anticancerígenos, los compuestos fenólicos contrarrestan la formación de radicales libres, los cuales afectan al ADN que, a mediano o largo plazo, pueden desencadenarse en células cancerosas ocasionando mutaciones a nivel celular en el organismo (47). Además, es posible que, debido a la alteración que los radicales libres generan en diversos sistemas de oxido-reducción del organismo, nuestro sistema inmunológico se vea afectado. Por ejemplo, al verse afectado el sistema glutatión peroxidasa, se desencadenan enfermedades que afecta al sistema neurológico como el Parkinson, Alzheimer u otras. Esto debido a que en diversas zonas del cerebro suele presentarse una transición de lagunas metales, lo cual eleva la presencia de radicales libres en zonas específicas del cerebro (48).

La biodisponibilidad de los polifenoles es baja, ya que estos se encuentran en los alimentos en formas que no se pueden absorber, principalmente en glucósidos. Durante el proceso de absorción, los polifenoles se enlazan con las células del intestino y luego se realizan procesos como sulfatación, metilación y/o glucuronidación en el hígado. Son propensos a metabolizarse o se excretan rápidamente (51).

Diversos estudios han demostrado que la ingesta crónica de extracto de té verde (más de 3 o 4 tazas al día) ha tenido un efecto positivo en promover la pérdida de peso (49). Este efecto “antiobesidad” de la ingesta de este extracto puede atribuirse a la oxidación elevada de grasas y al gasto energético total (9). Además, existen estudios que mencionan los efectos de esta ingesta crónica sobre el metabolismo de las grasas durante el descanso y ejercicio en humanos (50). Por ejemplo, en Ginebra se realizó el primer estudio

donde se investigó si el consumo crónico durante 24 horas de extracto de té verde podría aumentar la oxidación de grasas en reposo, y se obtuvo que el consumo de este extracto contribuye a la pérdida de peso, y además, el contenido de cafeína per se era independiente de dicho aumento (10).

El yogurt es un producto lácteo que se elabora a partir de la fermentación de la leche a raíz de la adición de un cultivo de bacterias vivas (11) y activas llamadas *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* (12). Como producto de la fermentación se obtiene el ácido láctico, el cual se encarga del sabor y aroma característico del yogurt (13). Tiene una composición similar a la leche, pues está hecha de esta, lo cual nos indica que es buena fuente de proteínas, calcio, fósforo, tiamina, riovoflabina y cobalamina. Además, el yogurt es una fuente valorable de niacina, folato, zinc y magnesio. A diferencia de la leche, el yogurt tiene mayor biodisponibilidad de nutrientes (14). Este derivado lácteo provee diversos nutrientes que nuestro organismo necesita, como potasio y calcio (15). El potasio controla la presión arterial, mientras que el calcio mantiene efectiva la salud ósea. Algunos yogurts tienen vitamina D añadida, la cual es capaz de aumentar la absorción de calcio y mejorar la función inmunológica del cuerpo. Asimismo, el yogurt aporta gran cantidad de proteínas, las cuales construyen y reparan músculos. Gracias a la presencia de probióticas (bacterias) el yogurt es capaz de mejorar la microbiota intestinal alimentando la flora microbiana del cuerpo humano (14).

Los productos lácteos fermentados son cada día más conocidos gracias a los grandes beneficios que brindan a la salud. En el reporte del INEI 2008-2009 se encontró que el consumo per cápita del yogurt era 3,1 L por persona, ubicándolo en el tercer puesto en cuanto al consumo de bebidas lácteas (44). Por un lado, un estudio en Malasia evaluó la fermentación de la leche, para la producción de yogurt, en presencia de té verde y determinó que al añadir el té verde antes de la fermentación dicho producto obtuvo propiedades antioxidantes, y por consiguiente grandes beneficios para la salud (16). Por otro lado, un

estudio en Canadá evaluó la digestibilidad de diversas matrices lácteas (simuladas) y su capacidad antioxidante con y sin extracto de té verde en el proceso de digestión. Se concluyó que un consumo de productos lácteos en paralelo y/o junto al de té verde contribuye positivamente a mantener la integridad y capacidad antioxidante de los polifenoles durante la digestión (17).

Por ello, tomando en cuenta los efectos positivos que otorga el té verde al cuerpo humano y al yogurt, consideramos que la adición del té al yogurt antes del proceso de fermentación, le propiciaría un sabor y características únicos tomando en cuenta la capacidad de captación de radicales libres y la acción de las bacterias lácticas (18). Por consiguiente, nos planteamos la hipótesis, que si a mayor concentración de *Camellia sinensis L.* (té verde) en un yogurt probiótico, mayor es el contenido de compuestos fenólicos (flavonoides), capacidad antioxidante y su aceptabilidad sensorial. Por lo anteriormente expuesto, se decidió realizar este estudio, ya que los resultados podrán generar una opción de consumo importante acorde con las crecientes necesidades actuales de la población peruana.

2. OBJETIVOS

2.1.Objetivo general

Evaluar el efecto de la incorporación de *Camellia sinensis L.* (té verde) sobre el contenido de compuesto fenólicos, capacidad antioxidante y aceptación sensorial de un yogurt probiótico.

2.2.Objetivos específicos

- Elaborar tres formulaciones de yogurt probiótico con adiciones de extracto de té verde en concentraciones de 2%, 4% y 6%, respectivamente.
- Determinar el contenido de compuestos fenólicos de las muestras de yogurt probiótico y té verde.
- Determinar la capacidad antioxidante de las muestras de yogurt probiótico y té verde.

- Evaluar la aceptabilidad sensorial de las muestras de yogurt probiótico y té verde.
- Realizar el análisis fisicoquímico de las muestras de yogurt probiótico y té verde.
- Realizar el análisis proximal del yogurt probiótico con té verde añadido más aceptado.
- Realizar el análisis microbiológico del yogurt probiótico con té verde añadido más aceptado.
- Realizar la cuantificación del número de bacterias ácido-lácticas del yogurt probiótico con té verde añadido más aceptado.

3. MATERIALES

3.1. Materias primas e insumos

- Agua
- Cepas probióticas: VIVOLAC.

Composición de las cepas:

- *Lactobacillus acidophilus* 10%
 - *Bifidobacterium bifidum* 5%
 - *Bifidobacterium infantis* 5%
 - *Lactobacillus bulgaricus* 10%
 - *Streptococcus thermophilus* 70%
- Edulcorante, Stevia – Zuvia.
- Leche fresca entera, Gloria.
- Leche instantánea en polvo entera, Gloria
- Té verde orgánico, Schagreen.

3.2.Reactivos

- Carbonato de sodio 7,5% *p/v*
- DPPH (2,2 – Difenil – 1 – Picrilhidrazilo) – Merk Millipore ® Alemania
- Estándar de flavonoides: ácido caféico 2 mg/mL – Merk Millipore ® Alemania
- Estándar de polifenoles: Trolox 112mM– Merk Millipore ® Alemania
- Etanol 80 y 95% *p/v*
- Folin Ciocalteu 7.5 mg/mL– Merk Millipore ® Alemania.

3.3.Equipos e instrumentos

- Agitador Vortex WiseMix VM-10
- Balanza de precisión portátil Ohaus® Traveler- 500 g $\pm$ 0.1 g
- Celdas de reducción UV VIS de 1mL
- Centrifugadora Awel MF 48-R
- Cuchara de palo
- Espectrofotómetro NANODROP ONE, Thermo scientific – USA
- Estufa de secado con convección forzada Binder Serie FD
- Incubadora Binder
- Micropipeta Gilson
- Olla
- Papel Whatman N°4
- Gasa para filtrar
- pH-metro (pH tester/Hanna)
- Probeta

- Probeta 50 mL
- Punta de pipeta 2,0 – 200 μ L
- Punta de pipeta 50 – 1000 μ L
- Recipiente de vidrio con capacidad de 3 L
- Refractómetro Hanna® Instruments Inc. Modelo HI 96801
- Refrigeradora Daewood Electronics
- Termómetro Giardino 0°C a 100°C
- Tubo de ensayo
- Vaso precipitado 500 mL

4. MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental de laboratorio entre los meses de julio y noviembre de 2018, donde se elaboró un yogurt probiótico con té verde añadido en diferentes concentraciones de 2%, 4% y 6%, se evaluó la aceptabilidad sensorial y analizó las características fisicoquímicas de los yogurts en el laboratorio de Nutrición y Dietética de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas, sede de Villa, en Lima. Además, se determinó el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en el laboratorio del Centro de Investigación e Innovación de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas, sede de Villa, en Lima, ubicados en Avenida Alameda San Marcos, Distrito de Chorrillos. Finalmente, se llevó el yogurt probiótico con 6% de té verde añadido, el cuál fue el más aceptado, a los laboratorios de la Universidad Nacional Agraria La Molina, en Lima, ubicados en Avenida La Molina, Distrito de La Molina, para el respectivo análisis proximal, microbiológico y cuantificación del número de bacterias ácido-lácticas.

4.1.Elaboración del yogurt probiótico natural

Su elaboración siguió lo establecido en la Ficha Técnica de Procesados Lácteos de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), de acuerdo con los descrito en el diagrama de flujo de la elaboración de un yogurt probiótico, **Figura N°1.**

Figura N° 1.
Diagrama de Flujo de la Elaboración de un Yogurt Probiótico

Para elaborar un yogurt natural probiótico, se usó leche fresca entera y, para estandarizar el porcentaje de sólidos totales se empleó leche en polvo instantánea (3%). Esta mezcla se sometió a pasteurización a 85°C por 10 minutos $\pm$ 2°C. Posterior a ello, se sometió a enfriar vía baño maría a una temperatura de 42°C. Finalmente, se le agregó 2% de cultivo probiótico Vivolac que contienen *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. y se llevó a incubación a 43°C hasta alcanzar el 0.7% de acidez expresado en ácido láctico y un pH de 4,5 por 3 a 4 horas. Una vez alcanzado dicho porcentaje, se llevó a refrigeración a temperatura de 5°C por 12 horas (19). La formulación que se ensayó con el yogurt probiótico se describe en la **Tabla N° 1**.

Tabla N°1.
Formulación del yogurt probiótico

Materias Primas/Producto	Yogurt probiótico
Leche fresca entera 12% de Sólidos Totales	97%
Leche en polvo	3%

4.2.Elaboración del extracto de té verde

El extracto de té verde se preparó siguiendo las pautas descritas en el estudio de Jaziri *et al.* (2009). Se sumergió 20g, 40g y 60g de té verde deshidratado, por separado, cada uno en 100 mL de agua desionizada hervida a 90°C por 10 $\pm$ 2 minutos para el caso de la elaboración de extracto al 2%, 4% y 6%, respectivamente. Luego, estas fueron filtradas a través de gasa y se añadieron al yogurt probiótico, antes del proceso de la fermentación, para la evaluación del contenido de compuestos fenólicos (20).

4.3.Preparación de las tres formulaciones de yogurt probiótico con té verde añadido

Se prepararon tres formulaciones diferentes de yogurt probiótico con té verde añadido las cuales se describen en la **Tabla N° 2**.

Tabla N° 2.
Formulaciones de yogurt con diferentes % de extracto de té verde

Productos/Formulaciones	F1	F2	F3
Yogurt Probiótico %	97	95	93
Extracto de Té Verde %	2	4	6
Edulcorante, Stevia %	1	1	1

**Todos los yogurts probióticos estarán a una concentración de 15% de Sólidos Totales.*

Asimismo, estas siguieron el diagrama de flujo de la elaboración de un yogurt probiótico con té verde añadido, **Figura N° 2**.

Figura N° 2.

Diagrama de Flujo de la Elaboración de un Yogurt Probiótico con Té Verde añadido.

4.4.Preparación de muestra para determinación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante

Para la determinación del contenido de compuesto fenólicos y capacidad antioxidante, se pesaron 10 g de las siguientes muestras: yogurt probiótico, yogurt probiótico al 2% de té verde, yogurt probiótico al 4% de té verde y yogurt probiótico al 6% de té verde. A cada una se le agregó 2,5 mL de metanol 80% y se

homogenizó cada muestra. Luego se llevaron a 5000 rpm por 10 minutos y se extrajo el sobrenadante y, este fue filtrado con papel Whatman N°4.

4.5.Determinación del contenido de compuestos fenólicos, flavonoides, de las muestras de yogurt probiótico y té verde

4.5.1. Preparación de curva estándar

La determinación del contenido de compuestos fenólicos, flavonoides, se realizó con el método de Folin-Ciocalteu, según Georgé et al. (2005). La curva estándar se elaboró utilizando como estándar al ácido caféico y como blanco agua desionizada (22). A partir de un stock de 2 mg/mL de ácido caféico, se prepararon 6 diluciones seriadas (1; 0,5; 0,25; 0,125; 0,0625; 0,03125 mg/mL), **Figura N° 3**.

Posterior a ello, se prepararon 8 muestras, por triplicado, para leer su absorbancia a 720 nm, en el espectrofotómetro; NanoDrop, **Figura N° 4**.

4.5.2. Determinación del contenido de compuestos fenólicos del yogurt probiótico y té verde

Se determinó el contenido total de polifenoles en las siguientes muestras: yogurt probiótico, yogurt probiótico al 2% de té verde, yogurt probiótico al 4% de té verde, yogurt probiótico al 6% de té verde, té verde al 2%, té verde al 4% y té verde al 6%. Diluciones 1/2 y 1/5 fueron preparadas para cada muestra,

por triplicado. Para la lectura se siguieron los mismos pasos descritos en la preparación de la curva estándar.

4.6.Determinación de la capacidad antioxidante: DPPH (2,2 – Difenil – 1 – Picrilhidrazilo) de las muestras de yogurt probiótico y té verde

4.6.1. Determinación de la capacidad antioxidante en muestras de yogurt probiótico:

La capacidad antioxidante se determinó a través del método descrito por Echevarría *et al.* (2009), donde se utilizó como estándar Trolox con un stock de 112 mM (23). Se prepararon 2 tubos (A y B) de las siguientes muestras: yogurt probiótico, yogurt probiótico al 2% de té verde, yogurt probiótico al 4% de té verde y yogurt probiótico al 6% de té verde diluidas con 50 uL de agua desionizada. A raíz del tubo A, se prepararon 2 tubos muestra (AA y AB), del tubo B se prepararon 2 tubos muestra (BB y BA) y finalmente, se preparó un quinto tubo (C), como se detalla en la **Figura N°5**. Luego, se esperó 15 minutos en un lugar oscuro y se procedió a leer su absorbancia a 517 nm, en el espectrofotómetro; NanoDrop.

Figura N° 5.
Preparación de tubos con muestras de yogurt probiótico.

4.6.2. Determinación de la capacidad antioxidante en muestras de té verde

Para la determinación de la capacidad antioxidante de las muestras de té verde, se prepararon 2 tubos (A y B) de las siguientes muestras: té verde al 2%, té verde al 4% y té verde al 6% diluidas con 50 uL de agua desionizada. A raíz del tubo A, se prepararon 2 tubos muestra (AA y AB), del tubo B se prepararon 2 tubos muestra (BB y BA) y finalmente, se preparó un quinto tubo (C), como se detalla en la **Figura N°6**. Luego, se esperó 15 minutos en un lugar oscuro y se procedió a leer su absorbancia a 517 nm, en el espectrofotómetro; NanoDrop.

Los resultados tanto de las muestras de yogurt probiótico como las de té verde, fueron expresados como porcentaje de decoloración del reactivo DPPH utilizando la siguiente ecuación:

$$\%Decoloración\ DPPH = \left[1 - \left(\frac{Am - Abm}{A_{DPPH}} \right) \right] \times 100$$

Dónde Am es la absorbancia de la mezcla de la reacción (DPPH + Trolox), Abm la del blanco (Metanol 80% + Trolox) y ADPPH la absorbancia de (Metanol 80% + DPPH). Como punto de comparación de la capacidad antioxidante se utilizó la IC50, la cual es una medida de la potencia de una sustancia para inhibir una función biológica o bioquímica específica, causante del 50% de la inhibición de la absorbancia.

4.7. Evaluación de la aceptabilidad sensorial

Para evaluar la aceptabilidad sensorial del yogurt probiótico con té verde añadido (formulaciones descritas en la **Tabla N° 2**). Se llevó a cabo mediante una prueba sensorial de preferencia, en donde se usó la escala hedónica de 5 puntos (Anzaldúa Morales, 1994). Fueron reclutados 80 alumnos no entrenados de uno u otro sexo, mayores de edad de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas, los cuáles fueron elegidos de manera aleatoria según disponibilidad de estos, sin embargo, se excluyeron aquellos que sufren de intolerancia a la lactosa, alguna alergia a la proteína de la leche o al té verde, fumadores y que estén con medicación actual.

La evaluación se realizó en el horario entre 15:00hrs a 17:00hrs, en un ambiente cerrado (libre de ruidos distractores, con ventilación adecuada y correcta iluminación), como lo es el laboratorio de Dietética (F 101) de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas, donde se pudo llevar un control de los asistentes seleccionados para realizar la prueba. Asimismo, cada panelista no entrenado tenía un asiento cómodo y separado uno del otro para que no haya influencia de opinión entre uno y otro. Antes de que iniciara la evaluación, se les entregó un consentimiento informado (*Ver Anexo 3*) dónde se les explicó en qué consistía la investigación, el objetivo de esta y lo que debían evaluar de cada muestra que se les entregó.

Cada panelista no entrenado se quedó con una copia del consentimiento informado firmada y fechada por las tesisistas. Asimismo, se les informó que su participación era totalmente voluntaria y que podrían retirarse

cuando ellos estimen necesario. A cada panelista no entrenado se le entregó una muestra de las 3 formulaciones de yogurt con té verde añadido en vasos de 8 onzas correctamente codificadas, una solo con yogurt natural probiótico que fue tomada como nuestro control y un vaso de agua. Se les pidió ingerir y evaluar los atributos de olor, color, sabor y consistencia, para lo que fue usada la ficha de evaluación (*Ver Anexo 4*) donde 5 significa “me gusta mucho” y 1 “me disgusta mucho” (24).

4.8. Análisis fisicoquímico de las muestras de yogurt probiótico y té verde

4.8.1. Determinación de pH

De acuerdo con la Norma General del Codex STAN 247 - 2005, el método que se usó fue el IFU No. 11 (1989) por el principio de potenciometría (25).

4.8.2. Determinación de % acidez

De acuerdo con la Norma General del Codex STAN 247 - 2005, el método que se usó fue el IFU No. 3 (1968) por el principio de volumetría (30).

4.8.3. Determinación de °Brix

De acuerdo con la Norma Técnica Peruana 202.1187: 1998 para la determinación de sólidos solubles en Lácteos y derivados se hizo uso de un refractómetro a la temperatura de 20°C (36).

4.8.4. Determinación de densidad

De acuerdo con la Norma Técnica Peruana 202.008: 1998 se hizo uso del método de densidad relativa, por duplicado a cada muestra (36).

4.9. Análisis proximal del yogurt probiótico con 6% de té verde añadido

Para la realización de este análisis, la muestra de yogurt probiótico con 6% de té verde añadido fue llevada al laboratorio La Molina Calidad Total en un envase de vidrio hermético de una capacidad de 2.5 litros, a una temperatura de refrigeración para lo cual se utilizó un cooler. El envase se encontraba rotulado y codificado.

4.9.1. Determinación de proteínas

De acuerdo con la NTP 202.119-1998 (2014), se determinó la concentración de nitrógeno luego convertido en proteína a través de un factor (6.38). Se usó el método Kjeldahl (26).

4.9.2. Determinación de grasas

De acuerdo con FIL-IDF 116 A: 1987, se determinó la concentración de grasa cruda o extracto etéreo libre. Para ello se usó el método Rose-Göttlieb, en el cual se pesaron 5g de la muestra de yogurt y en solución amoniacal se extrajo con dietil-éter y éter de petróleo en tres proporciones. Luego, por destilación y evaporación, se removieron los solventes y se determinó la masa de la sustancia extraída (27).

4.9.3. Determinación de carbohidratos

De acuerdo con la MS-INN Collazos (1993), se determinó la cantidad de carbohidratos (en gramos) mediante la diferencia de 100 menos suma del total de gramos de proteínas, grasa, agua, cenizas y alcohol (28).

4.9.4. Determinación de sales minerales o cenizas

De acuerdo con la Norma A.O.A.C.945.46, se determinó el contenido de cenizas totales mediante la colocación de muestras de yogurt en crisoles de porcelana que luego se quemaron a llama de mechero sobre una tela de amianto o placa vitro-cerámica y en seguida se calcinó en una mufla a 550°C (29).

4.9.5. Determinación de la humedad

De acuerdo con FIL-IDF 151 (1991), se determinó el contenido de agua de la muestra usando el método de gravimetría. Este consistió en eliminar de 2 g de muestra, la cantidad total de agua por evaporación en presencia de arena en baño a ebullición (31).

4.9.6. Determinación de energía

De acuerdo con MS-INN Collazos (1993), se estableció el contenido de kilocalorías por medio de un cálculo numérico, en donde se multiplicó el contenido de proteínas y carbohidratos (en gramos) por cuatro; y se multiplicó la cantidad de grasa (en gramos) por nueve. Luego se sumaron los resultados y se obtuvo el total.

4.10. Análisis microbiológico del yogurt probiótico con 6% de té verde añadido

De acuerdo con la ICMSF, se analizaron los agentes microbianos mohos y levaduras por la técnica de recuento en placa para productos con actividad de agua menor o igual a 0.95 (UFC/g) (31). También se evaluó el recuento de bacterias del grupo coliformes por el procedimiento de recuento de coliformes (NMP/g) (32).

4.11. Cuantificación del número de bacterias ácido-lácticas del yogurt con 6% de té verde añadido

Se utilizó un cultivo de cepas probióticas de la empresa Vivolac, concentradas y liofilizadas de bacterias acidolácticas, las cuales fueron utilizadas para la elaboración de un yogurt probiótico con baja viscosidad y post-acidificación mínima. Las bacterias usadas fueron *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. El método en el que se evaluó el contenido de bacterias probióticas fue el APHA (American Public Health Association) y CMMEF (Compendium of methods for microbiological analysis of food) (35).

5. RESULTADOS

5.1. Determinación del contenido de compuestos fenólicos, flavonoides, de las muestras de yogurt probiótico y té verde:

En este experimento se buscó determinar el contenido de compuestos fenólicos del yogurt probiótico, del yogurt probiótico con 2%, 4% y 6% de té verde añadido y del té verde al 2%, 4% y 6%. Para determinar el contenido de compuestos fenólicos se utilizó un espectrofotómetro NanoDrop que mide la absorbancia a 720 nm longitud de onda. En primera instancia, podemos observar que este experimento fue replicable, ya que se encontró un coeficiente de regresión (R^2) de 0,9973 (**Gráfico N° 1**), lo cual nos precisaría el por qué la repetición por triplicado sigue un modelo lineal ascendente.

Gráfico N° 1.
Curva Estándar.

Por un lado, el yogurt con 6% de extracto de té verde obtuvo 1,64 mg/mL equivalentes a ácido caféico que, a comparación con el yogurt con 2% de extracto de té verde, este tuvo 0,67 mg/mL, lo que indica que fue casi el triple, como se visualiza en la **Gráfico N° 2**.

Gráfico N° 2.
Contenido de compuestos fenólicos del yogurt probiótico con té verde añadido

Por otro lado, el té verde al 6% obtuvo 7,38 mg/mL equivalentes a ácido caféico que, a comparación del té verde al 2% que tuvo 5,15 mg/mL, casi el doble. Por consiguiente, hemos encontrado que a mayor concentración de té verde hay mayor presencia de compuestos fenólicos, como se visualiza en la **Gráfico N° 3**.

Gráfico N° 3.

Contenido de compuestos fenólicos del extracto de té verde.

5.2.Determinación de capacidad antioxidante: DPPH (2,2 – Difenil – 1 – Picrilhidrazilo) de las muestras de yogurt probiótico y té verde:

En este experimento se buscó determinar la capacidad antioxidante del yogurt probiótico, del yogurt probiótico con 2%, 4% y 6% de té verde añadido y del té verde al 2%, 4% y 6%. Para determinar la capacidad antioxidante se realizaron mediciones independientes de cada componente de la reacción colorimétrica que permite calcular un valor IC₅₀. Sin embargo, su implementación requiere una estandarización precisa de la concentración del estándar (Trolox) y el tiempo de reacción. Por consiguiente, a mayor concentración de Trolox, se observa una relación inversamente proporcional de la absorbancia medida a 517 nm en el espectrofotómetro, NanoDrop. Además, a mayor tiempo de reacción

se observa una disminución de la absorbancia. Ambas condiciones, la concentración y el tiempo de incubación, deben respetarse en forma estricta para obtener una buena reproducibilidad de valores estándares alrededor del valor IC50 (50%). Se realizaron comparaciones de las mediciones a 15 y 30 minutos de la reacción obteniendo valores de 54% y 71%, respectivamente. En ambos casos se utilizó una concentración estándar de 1.67 mg/mL de Trolox, como se detalla en la **Tabla N° 3**.

Tabla N° 3.
Capacidad antioxidante del estándar – Trolox

Tiempo (min)	Trollox + DPPH			Trollox + Metanol			Metanol + DPPH			IC50	
	Abs 517 - 1	Abs 517 -2	Media	Abs 517 - 1	Abs 517 -2	Media	Abs 517 - 1	Abs 517 -2	Media	Decoloración	%
15	0.24	0.17	0.21	0.04	0.05	0.05	0.34	0.35	0.35	0.54	53.62
30	0.21	0.14	0.18	0.07	0.03	0.05	0.42	0.43	0.43	0.71	70.59

Por un lado, se observa que el yogurt probiótico resulta en un limitado porcentaje de decoloración, lo que indica una baja capacidad antioxidante (**Gráfico 4A**). Dicho porcentaje de decoloración aumenta en muestras de yogurt con té verde añadido. Esto indica que hay una mayor capacidad antioxidante. El cálculo del porcentaje de decoloración a unidades equivalentes de Trolox indica que las muestras de yogurt probiótico con té verde añadido en 2%, 4% y 6%, corresponden a 0,56; 1,7 y 1,89 mg/ mL de Trolox, respectivamente (**Gráfico N° 4B**).

Gráfico N° 4

A. Capacidad antioxidante de un yogurt probiótico con té verde añadido expresado en porcentaje de decoloración

B. Capacidad antioxidante de un yogurt probiótico con té verde añadido expresado en equivalentes de Trolox

Por otro lado, se puede observar que los porcentajes de decoloración del yogurt probiótico con té verde al 2%, 4% y 6% son directamente proporcionales al aumento del extracto de té verde. (**Gráfico N° 5A**) Por

consiguiente, se ha encontrado que a mayor concentración de té verde hay mayor capacidad antioxidante, como se observa en el **Gráfico N° 5B**.

Gráfico N° 5.

A. Capacidad antioxidante del yogurt probiótico con té verde añadido y extracto de té verde expresada en porcentaje de decoloración

B. Capacidad antioxidante del yogurt probiótico con té verde añadido y extracto de té verde expresada en unidades equivalentes Trolox

5.3.Evaluación de la aceptabilidad sensorial

La evaluación sensorial de las muestras de yogures con diferentes % de té verde tuvo como objetivo determinar la formulación más aceptada, por un grupo de panelistas no entrenados. Por ello, en el análisis sensorial se incluyó una muestra blanco (yogurt probiótico sin extracto de té verde) de tal manera que se pudo determinar el real efecto de la adición de té verde a un yogurt probiótico. Debido a que las variables en estudio mostraron que su distribución no se aproxima razonablemente a una distribución normal (*Ver Anexos 1 y 2*), para una mayor confiabilidad a la inferencia a continuación se realiza una prueba de hipótesis empleando como concepto estadístico el test de Kolmogorov-Smirnov (K-S).

5.3.1. Comprobación de normalidad en los datos de aceptabilidad de cada atributo Prueba de Kolmogorov-Smirnof:

Dado que los valores de significancia $P = 0,005$; $<0,001$; $0,043$ y $0,022$ para los atributos color, olor, sabor y consistencia respectivamente son mayores a $\alpha = 0,05$; existe suficiente evidencia para no aceptar la hipótesis nula, lo cual significa que los datos no provienen de una población normal, como se muestra en la **Tabla N° 4**.

Tabla N° 4
Pruebas de Normalidad

Atributo	Kolmogorov-Smirnov ^a		
	Estadístico	gl	Sig.
Color	0.122	80	0.005
Olor	0.519	80	<0,001
Sabor	0.101	80	0.043
Consistencia	0.108	80	0.022

**Corrección de significación de Lilliefors*

Por lo tanto, se procedió a realizar el análisis estadístico no paramétrico de Friedman ya que permite establecer diferencias significativas entre los niveles de aceptación por atributo de las cuatro formulaciones de yogurt.

5.3.2. Prueba de Friedman:

Tabla N° 5
Rangos Promedios de Friedman

Formulaciones	Códigos	Color	Olor	Sabor	Consistencia
TC	495	2.64	2.94	2.99	2.26
T1	876	2.41	2.14	1.84	2.38
T2	920	2.48	2.18	2.22	2.55
T3	547	2.48	2.74	2.95	2.82

Color:

De acuerdo con la **Tabla N° 6**, mediante la prueba de Friedman se determinó que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) para el atributo *color* entre las formulaciones de yogurt planteadas en el presente estudio.

Tabla N° 6
Análisis de Varianza por Rangos de Friedman

Estadísticos de contraste	Valor pc
N	80
Chi ²	3.358
Gl	3
Sig. Asintót.	0.340
Prueba de Friedman	

Olor:

De acuerdo con la **Tabla N° 7**, mediante la prueba de Friedman se determinó que por lo menos existen diferencias significativas ($p < 0,05$) para el atributo *olor* entre dos de las formulaciones de yogurt.

Tabla N° 7
Análisis de Varianza por Rangos de Friedman

Estadísticos de contraste	Valor pc
N	80
Chi ²	33.588
Gl	3
Sig. Asintót.	<0,001
Prueba de Friedman	

Por un lado, a través de la prueba de Wilcoxon se determinó que las formulaciones T1 y T2 no presentan la misma aceptación ($pc < 0,05$) con respecto al yogurt control (TC) para el atributo olor; así mismo se observa diferencias ($pc < 0,05$) entre las formulaciones T1 y T2 con respecto a T3. Además, las formulaciones T1 con T2 presentan la misma aceptación ($pc > 0,05$) en cuanto al atributo olor; así mismo se determina que la formulación de yogurt T3 es la más aceptada para este atributo, debido a que presenta la misma aceptación que la formulación control, así como un rango promedio de 2,74; como se muestra en la **Tabla N° 8**.

Tabla N° 8
Estadístico de Prueba de Wilcoxon

	T1 - TC	T2 - TC	T3 - TC	T2 - T1	T3 - T1	T3 - T2
Z	-4.405 ^b	-4.210 ^b	-1.357 ^b	-0.083 ^b	-3.875 ^c	-4.050 ^c
<i>Sig. Asintótica (bilateral)</i>	<0,001	<0,001	0.175	0.934	<0,001	<0,001

a. Prueba de rangos con signo de Wilcoxon

b. Se basa en rangos positivos.

c. Se basa en rangos negativos.

Por otro lado, la **Tabla N° 9** muestra dos (02) grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas, evidenciando que no existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's.

Tabla N° 9
Contraste de Grupos Homogéneos

Tratamiento	Casos	Grupos Homogéneos
TC	80	X
T1	80	X
T2	80	X
T3	80	X

Sabor:

Tal y como se observa en la **Tabla N° 10**, el análisis estadístico de Friedman y el valor-P calculado, y se determinó que para el atributo sabor por lo menos existen diferencias significativas ($p_c < 0,05$) entre dos de las formulaciones planteadas.

Tabla N° 10
Análisis de Varianza por Rangos de Friedman

Estadísticos de contraste	Valor pc
N	80
Chi ²	56.379
Gl	3
Sig. Asintót.	<0,001
Prueba de Friedman	

Por un lado, en la **Tabla N° 11**, mediante la prueba de Wilcoxon se determinó que las formulaciones T1 y T2 no presentan la misma aceptación ($p_c < 0,05$) con respecto al yogurt control (TC) para el atributo sabor; así mismo existen diferencias ($p_c < 0,05$) entre las formulaciones T1 y T2 con respecto a T3. Además, en las formulaciones T1 con T2 y T3 con TC no existen diferencias significativas de aceptación ($p_c > 0,05$) en cuanto al atributo sabor. Por lo tanto, se determina que la formulación T3 es la más aceptada en cuanto a sabor ya que presenta la misma preferencia que la formulación TC.

Tabla N° 11
Estadístico de Prueba de Wilcoxon

	T1 - TC	T2 - TC	T3 - TC	T2 - T1	T3 - T1	T3 - T2
<i>Z</i>	-5.756 ^b	-4.254 ^b	-0.654 ^b	-2.038 ^c	-5.494 ^c	-4.289 ^c
<i>Sig. Asintótica (bilateral)</i>	<0,001	<0,001	0.513	0.042	<0,001	<0,001

a. Prueba de rangos con signo de Wilcoxon

b. Se basa en rangos positivos.

c. Se basa en rangos negativos.

Por otro lado, la **Tabla N° 12** muestra que los grupos T1 con T2 y T3 con TC son homogéneos según la alineación de las X's en columnas, evidenciando que no existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's.

Tabla N° 12
Contraste de Grupos Homogéneos

Tratamiento	Casos	Grupos Homogéneos
TC	80	X
T1	80	X
T2	80	X
T3	80	X

Consistencia:

Debido a que la significancia asintótica $P=0,009$ es $<\alpha=0,05$ existe suficiente evidencia para refutar la hipótesis nula; por tanto el nivel de aceptación en cuanto al atributo consistencia en por lo menos dos de las formulaciones planteadas difieren entre sí, como se muestra en la **Tabla N° 13**.

Tabla N° 13
Análisis de Varianza por Rangos de Friedman

Estadísticos de contraste	Valor pc
N	80
Chi ²	11.523
Gl	3
Sig. Asintót.	0.009
Prueba de Friedman	

Por un lado, en la **Tabla N° 14**, mediante la prueba de Wilcoxon se determinó que las formulaciones T1 y T2 presentan la misma aceptación ($p_c > 0,05$) con respecto al yogurt control (TC) para el atributo sabor; así mismo no se presentan diferencias significativas ($p_c > 0,05$) entre los pares de las formulaciones T1-T2, T1-T3 y T2-T3. Además, la formulación T3 presenta diferencia significativa de aceptación ($p_c < 0,05$) para el atributo consistencia con la formulación control, siendo el más preferido por los panelistas.

Tabla N° 14
Estadístico de Prueba de Wilcoxon

	T1 - TC	T2 - TC	T3 - TC	T2 - T1	T3 - T1	T3 - T2
<i>Z</i>	-1.169 ^b	-1.413 ^b	-3.650 ^b	-0.881 ^b	-2.632 ^b	-1.906 ^b
<i>Sig. Asintótica (bilateral)</i>	0.242	0.158	<0,001	0.378	0.008	0.057

a. Prueba de rangos con signo de Wilcoxon

b. Se basa en rangos positivos.

c. Se basa en rangos negativos.

Por otro lado, la **Tabla N° 15** muestra que los grupos T1, T2 y TC son homogéneos al igual que el grupo T1, T2 y T3 según la alineación de las X's en columnas, evidenciando que no existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's.

Tabla N° 15
Contraste de Grupos Homogéneos

Tratamiento	Casos	Grupos Homogéneos	
TC	80	X	
T1	80	X	X
T2	80	X	X
T3	80		X

5.4. Análisis fisicoquímico de las muestras de yogurt probiótico y té verde:

En este experimento se buscó analizar las características fisicoquímicas del yogurt probiótico y del yogurt probiótico con 2%, 4% y 6% de té verde añadido. Para lo cual se analizó el pH con el potenciómetro de los laboratorios de bioquímica y los grados brix con el refractómetro del laboratorio de dietética. Además,

se determinó el porcentaje de acidez expresados g por cada 100 g de ácido láctico mediante el principio de volumetría y, la densidad por el método de densidad relativa, tal y como se detalla en la **Tabla N° 16**.

Tabla N° 16
Características fisicoquímicas de las muestras de yogurt probiótico y té verde

	Yogurt Probiótico	Yogurt Probiótico + Té Verde 2%	Yogurt Probiótico + Té Verde 4%	Yogurt Probiótico + Té Verde 6%
pH	4.50	3.97	3.89	4.49
°Brix	9.70	4.30	4.90	6.40
%Acidez expresado en ácido láctico (g/100g)	0.19	0.21	0.21	0.18
Densidad (g/100cm-3) T 20°C	1.06	1.05	1.06	1.04

5.5. Análisis proximal del yogurt probiótico con 6% de té verde añadido:

En este experimento se buscó determinar la composición química proximal del yogurt que fuera el más aceptado en la evaluación sensorial, siendo el yogurt probiótico con 6% de té verde añadido. Los resultados se muestran en la **Tabla N° 17**.

Tabla N° 17
Análisis proximal del yogurt probiótico con 6% de té verde añadido

	Valores promedio de un yogurt natural	Unidad de medida	Yogurt Probiótico + Té Verde 6%
Proteínas	2.7	g/100g de muestra	3.0
Grasas	3.0	g/100g de muestra	2.7
Carbohidratos	5.5	g/100g de muestra	6.2
Cenizas	0.7	g/100g de muestra	0.8
Humedad	79.8	g/100g de muestra	87.3
Energía	97	kcal/100g de muestra	61.1

5.6. Análisis microbiológico del yogurt probiótico con 6% de té verde añadido:

En este experimento se buscó determinar el contenido de mohos, levaduras y coliformes en el yogurt probiótico con 6% té verde añadido, cuyos resultados se muestran en la **Tabla N° 18**.

Tabla N° 18

Composición microbiológica del yogurt probiótico con 6% de té verde añadido

	Valores requeridos por normativa (m – M)	Unidad de medida	Yogurt Probiótico + Té Verde 6%
N. de Levaduras	10 - 10 ²	UFC/g	< 10
N. de Mohos	10 - 10 ²	UFC/g	< 10
N. de Coliformes	10 - 10 ²	NMP/g	< 3

5.7. Cuantificación del número de bacterias ácido-lácticas del yogurt con 6% de té verde añadido:

En este experimento se buscó determinar el número de bacterias ácido-lácticas (UFC/g), presentes en el yogurt con té verde de mayor aceptación sensorial (6%) el cual se muestra en la **Tabla N ° 19**.

Tabla N° 19

Composición de bacterias ácido-lácticas del yogurt probiótico con 6% de té verde añadido

	Valores mínimos esperados	Unidad de medida	Yogurt Probiótico + Té Verde 6%
N. de Bacterias Ácido-Lácticas	10 ⁷	UFC/g	4.9x10 ⁶

6. DISCUSIÓN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de la incorporación de *Camellia sinensis* L. (té verde) sobre el contenido de compuesto fenólicos, capacidad antioxidante y aceptación sensorial de un yogurt probiótico. El análisis del contenido de bacterias lácticas en el yogurt probiótico con 6% de té verde añadido demostró que superó los estándares mínimos requeridos por el DS 007-2017-MINAGRI que establece un mínimo 10⁷ UFC/g (36), pues los resultados obtenidos fueron de 4,9 x 10⁷ UFC/g teniendo la certeza que el yogurt elaborado es probiótico.

Respecto al análisis químico proximal de dicho yogurt se puede indicar que, en cuanto al contenido de proteínas, lo encontrado fue superior (3 g por 100 g de muestra) a lo que establece el DS 007-2017-MINAGRI que es de 2,7g por 100g de muestra (36). Las proteínas del yogurt están constituidas por la caseína, alfa lactoalbúmina y beta lactoglobulina, que son consideradas de alto valor biológico. Otros estudios reportan un valor ligeramente más alto (3,63 g por 100 g de muestra) y esto se puede deber a que hubo diferencia de porcentaje de sólidos lácteos iniciales para la elaboración del yogurt (38). Con relación al contenido de grasa, el DS 007-2017-MINAGRI especifica que la cantidad mínima de materia grasa láctea es de 3 g por 100 g de muestra el resultado obtenido fue de 2,7g por 100g de muestra, lo cual es muy cercano a la cantidad mínima requerida, esta diferencia se puede deber a la sensibilidad de la metodología empleada en el análisis. Además, se reportó que el contenido de carbohidratos en 100g de muestra fue de 6,2 g siendo 0,7 g más alto de lo que requiere la DS 007-2017-MINAGRI. Se tomó en cuenta que esos carbohidratos están compuestos básicamente de lactosa, ya que en la formulación del yogurt para esta investigación no se añadió sacarosa, sino se empleó un edulcorante acalórico, como es la stevia. El CODEX STAN 192-1995. Rev 2018 considera a la stevia un edulcorante natural y se permite su uso en derivados lácteos como el yogurt (39). Asimismo, el DS 007-2017-MINAGRI no establece requisitos para el contenido de cenizas, humedad ni energía, sin embargo, se hizo una comparación con el estudio de Parra *et al.* el cual reporta un contenido de 0,78 g de cenizas y 77,84 g de humedad por 100 g de muestra y, en la presente investigación el contenido de cenizas y humedad fue superior al estudio citado anteriormente (38).

En cuanto al análisis microbiológico el DS 007-2017-MINAGRI establece que el yogurt no debe presentar un nivel mayor de 10^2 UFC/g de levaduras, mohos y coliformes (36), por ello se determinó que, en los tres análisis realizados, el contenido de levaduras, mohos y coliformes está muy por debajo del límite

máximo establecido. Lo que demuestra que en todo momento de la elaboración del yogurt probiótico se siguieron las buenas prácticas de manufactura y se cumplieron las condiciones necesarias para asegurar la inocuidad del producto.

En relación con el análisis de las características fisicoquímicas, todos los valores resultantes se encuentran dentro de los parámetros normales que establece la norma. Se puede observar que el porcentaje de acidez fue aumentando conforme se agregaba más cantidad de té verde. Esto es debido a que los compuestos fenólicos presentes en el té sirven como prebióticos para las bacterias ácido-lácticas. Entonces, al haber mayor cantidad de té verde, mayor es la proliferación de bacterias y por eso el porcentaje de acidez aumenta. (41)

En cuanto al contenido de compuestos fenólicos, los resultados evidencian que, a mayor concentración de extracto de té verde, mayor es el contenido de compuestos fenólicos en las muestras de yogurt probiótico con té verde añadido (**Gráfico N°2**). Por ello, el yogurt probiótico con 6% de extracto de té verde añadido obtuvo 1,64 mg/mL equivalentes a ácido caféico que, a comparación de la muestra con 2% de extracto de té verde añadido, obtuvo 0,67mg/mL, es decir, hubo un incremento de casi el triple de los compuestos fenólicos. Del mismo modo pasó con las muestras de extracto de té verde, las cuales evidenciaron un incremento de compuestos fenólicos similar a lo sucedido en las muestras de yogurt probiótico con té verde añadido (**Gráfico N° 3**). Según Amirdivani *et al*, dicha presencia de compuestos fenólicos en las diferentes muestras de leche y extractos de té verde puede atribuirse a que existe un proceso de descomposición de estos compuestos durante la fermentación en la elaboración del yogurt por las actividades metabólicas de las cepas probióticas añadidas. Es por eso que, la concentración de compuestos fenólicos en las muestras de extracto de té verde es mayor en comparación con las muestras de yogurt probiótico con té verde añadido. Esto sucede, debido al calor generado durante la elaboración de yogurt probiótico donde se llegan a degradar parte de la cantidad de compuestos fenólicos, pero no por completo, por ello se conservan parte de estos compuestos fenólicos propios del extracto de té verde, en el yogurt

probiótico con té verde añadido (16). Además, Lamothe *et al*, menciona que si bien, los compuestos fenólicos son inestables en el ambiente intestinal, estos suelen protegerse al tener interacción con proteínas lácteas, como sucede al ser añadido a la elaboración de un yogurt probiótico, se debe mencionar que las proteínas lácteas también favorecen la integridad de los compuestos fenólicos durante la digestión (17). Además, gracias a la estabilidad que adquieren los compuestos fenólicos al interactuar con las proteínas del yogurt podemos decir que, nuestro producto ejercerá grandes beneficios en la salud de quienes consuman el producto tales como: efectos vasodilatadores y vasoprotectores que favorecerán al sistema cardiovascular (45). También, permitirán contrarrestar la formación de radicales libres para prevenir posibles mutaciones en nuestro ADN y, que se formen células cancerosas que afecten nuestro estado de salud (47).

Por otro lado, el estudio de Hee Jeong *et. al.* menciona que durante la fermentación láctica del yogurt se forman péptidos bioactivos, los cuales tienen una ligera actividad antioxidante (41). Estos péptidos se pueden encontrar en la leche, huevos blancos o suero (42). Para determinar la capacidad antioxidante, se utilizó el ensayo de Echevarria *et. al.* En dicho ensayo, el porcentaje de decoloración es proporcional a la capacidad antioxidante de la mezcla estudiada. Como resultados de la presente investigación, se obtuvo que el yogurt natural (0% de té verde añadido) presenta una reducida capacidad antioxidante (0,12mg de Trolox/mL), la cual se evidenció por un mínimo porcentaje de decoloración. Esta puede referirse al contenido de péptidos bioactivos mencionados anteriormente. La adición de extracto de té verde al proceso de elaboración del yogurt probiótico resultó en un marcado aumento de la capacidad antioxidante. Esto es, según Amirdivani *et al.*, debido a que el extracto de té verde incrementa el crecimiento de bacterias lácticas y, con ello, se produce una mayor capacidad antioxidante (16). Los valores de la capacidad antioxidante del yogurt con diferentes concentraciones (2%, 4% y 6%) de té verde añadido fueron 0,56; 1,7 y 1,8 mg de Trolox/mL, respectivamente. Esta se evidenció por una fuerte decoloración de la reacción

que, en condiciones experimentales distintas, se asemeja a lo visto por Amirdivani *et. al.* Además, se hizo una comparación entre la capacidad antioxidante del yogurt con el extracto de té verde añadido y el extracto de té verde solo en donde se pudo notar que hay una ligera diferencia de unidades equivalentes de Trolox (mg/mL), la cual fue de 0,24; 0,5 y 0,6 mg de Trolox por mililitro para el yogurt con 2%, 4% y 6%, respectivamente. Según Trigueros *et.al.*, los compuestos fenólicos tienen una gran habilidad para interactuar con las proteínas de la leche y esta interacción es mayor en el punto isoeléctrico cuando se produce el yogurt; es por ello que, la variación de las dos variables comparadas fue mínima (40). En el cuerpo existen moléculas muy inestables y reactivas, capaces de existir independientemente y dañar el núcleo y membrana de las células debido a que tienen un electrón no apareado en un orbital atómico. Estas moléculas son llamadas radicales libres. El beneficio de que un producto bebible o comestible contenga compuestos con gran capacidad antioxidante lo convierte importante en el campo de la salud y nutrición, pues es capaz de retrasar o inhibir el daño celular producido por los radicales libres. Se conoce la existencia de compuestos producidos en el metabolismo que son capaces de contrarrestar el daño producido, tales como glutatión, ubiquinol y ácido úrico. Sin embargo, se recomienda que se consuman alimentos ricos en compuestos con alta capacidad antioxidante para que el efecto sea mayor (43).

Finalmente, en la **Tabla N° 5** se observan los resultados promedio de aceptabilidad sensorial para los atributos olor, color, sabor y consistencia obtenidos por el ANOVA de Friedman. De acuerdo con los resultados obtenidos, se encontró diferencias significativas en todos los atributos evaluados, con la excepción de color. Asimismo, se muestra que la T3 (yogurt probiótico con 6% de té verde añadido) es la muestra más aceptada significativamente en los atributos de olor (2,74), sabor (2,95) y consistencia (2,82). Tal y cómo menciona Frost y Janhoj en su estudio, al parecer la consistencia parece ser un factor determinante para la aceptabilidad sensorial de un yogurt por parte del consumidor (37). Es por ello que la formulación que contenía mayor extracto de té verde fue la elegida para realizar en ella los análisis de

composición proximal y microbiológico pues es la que la vez presentó el mayor contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante. Según Coronado et al, la cantidad diaria de polifenoles que se debe consumir es entre 20 y 36mg. (52) El yogurt probiótico con té verde que se elaboró para el estudio contiene 1.64mg de polifenoles en 1 ml, lo que en una taza de yogurt (220ml) se traduciría a 361ml de polifenoles. Teniendo en cuenta lo anterior, este yogurt en cualquiera de sus concentraciones es una fuente importante de compuestos fenólicos que puede ayudar a sumar junto con, las verduras y frutas, el aporte de compuestos antioxidantes en la dieta de los consumidores.

7. CONCLUSIONES

Se logró elaborar un yogurt probiótico con extracto de té verde añadido, considerado probiótico por presentar 46×10^6 UFC/g, siendo lo mínimo requerido 10^7 UFC/g. Además, todas las formulaciones propuestas presentaron un alto contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, respectivamente. Asimismo, el yogurt probiótico con 6% de té verde añadido fue el más aceptado por la población, corroborándose la hipótesis de investigación propuesta y, según el análisis fisicoquímico proximal y microbiológico realizada evidencia que esta muestra se encuentra dentro de los parámetros técnicos y legales establecidos para un producto lácteo fermentado; yogurt probiótico. A mayor concentración de extracto de te verde añadido en el yogurt probiótico, mayor fue el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante (1,64 mg/mL equivalente a Ácido Caféico; 1,89 mg/mL equivalente a Trolox).

8. LIMITACIONES

En la presente investigación no se pudo realizar los análisis propuestos con diferentes marcas de té verde que se comercializan en nuestro país, limitando el alcance del estudio. Además, no se pudo evaluar si las condiciones de almacenamiento del yogurt durante su estancia en anaquel, afecte el contenido de

compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante. Asimismo, cabe mencionar que los resultados sensoriales del yogurt obtenidos en la investigación no pueden ser extrapolados a la población peruana debido a que la población sobre la cual se estimó la aceptabilidad sensorial no es probabilística. Todo lo anotado podría ser materia de estudio en futuras investigaciones.

9. FORTALEZAS

Se logró determinar que la adición de un extracto de té verde a un producto lácteo fermentado no afectaba negativamente los compuestos fenólicos ni su capacidad antioxidante sino todo lo contrario, a mayor concentración de extracto de té verde en el yogurt probiótico el contenido de compuesto fenólicos y capacidad antioxidante se incrementó considerablemente. Estos hallazgos podrían ser de utilidad para la industria alimentaria nacional pudiendo tomar en consideración la elaboración del producto a mayor escala.

10. REFERENCIAS

1. Hodgson, Adrian B., Rebecca K. Randell, and Asker E. Jeukendrup. The Effect of Green Tea Extract on Fat Oxidation at Rest and during Exercise: Evidence of Efficacy and Proposed Mechanisms. *Advances in Nutrition* 4.2 (2013): 129–140.
2. Khan, Naghma y Hasan Mukhtar. "Té y salud: estudios en humanos". *Current pharmaceutical design*. (2013): (19)34, 6141-7
3. Chacko, Sabu M et al. Beneficial Effects of Green Tea: A Literature Review. *Chinese Medicine* 5 (2010): 13.
4. Quiñones M, Miguel M, A. Aleixandre. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp*. (2012) ;27(1):76-89.
5. Najgebauer-Lejko, Dorota. Effect of Green Tea Supplementation on the Microbiological, Antioxidant, and Sensory Properties of Probiotic Milks. *Dairy Science & Technology* 94.4 (2014): 327–339.
6. Suzuki T, Pervin M, Goto S, Isemura M, Nakamura Y. Beneficial Effects of Tea and the Green Tea Catechin Epigallocatechin-3-gallate on Obesity. *Molecules*. (2016) Sep 29;21(10).
7. Saklar, Sena, Et al. Effects of Different Brewing Conditions on Catechin Content and Sensory Acceptance in Turkish Green Tea Infusions. *Journal of Food Science and Technology* 52.10 (2015): 6639–6646.
8. Vodnar, Dan C, Carmen Socaciu. Green Tea Increases the Survival Yield of Bifidobacteria in Simulated Gastrointestinal Environment and during Refrigerated Conditions. *Chemistry Central Journal* 6 (2012): 61.
9. Mousavi, Ateke, Et al. The Effects of Green Tea Consumption on Metabolic and Anthropometric Indices in Patients with Type 2 Diabetes. *Journal of Research in Medical Sciences: The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences* 18.12 (2013): 1080–1086.

10. Dulloo AG, Duret C, Rohrer D, Girardier L, Mensi N, Fathi M, Et al. Efficacy of a green tea extract rich in catechin polyphenols and caffeine in increasing 24-h energy expenditure and fat oxidation in humans. *Am J Clin Nutr.* (1999) Dec;70(6):1040-5.
11. Marulanda, Mateo; Granados, Clemente; Garcia-zapateiro, Luis Alberto. Análisis sensorial y estimación fisicoquímica de vida útil de una bebida tipo yogur a base de lactosuero dulce fermentada con *Streptococcus Salivarius* ssp. *Thermophilus* y *Lactobacillus Casei* ssp. *Casei*. *Rev. P+L*, (2016) Jan; 11 (1): 94-102.
12. Elli, Marina, Et al. Survival of Yogurt Bacteria in the Human Gut. *Applied and Environmental Microbiology* 72.7 (2006): 5113–5117.
13. Abu-Elsaad NM, Abd Elhameed AG, El-Karef A, Ibrahim TM. Yogurt Containing the Probiotic *Lactobacillus acidophilus* Combined with Natural Antioxidants Mitigates Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy in Rats. *J Med Food.* (2015) Sep;18(9):950-9.
14. Parra Huertas Ricardo Adolfo. Yogur en la salud humana. *Rev. Lasallista Investig.* [Internet]. (2012) Dec; 9 (2): 162-177.
15. McKinley, Michelle C. The nutrition and health benefits of yoghurt. *International journal of dairy technology.* (2005) Feb; 58 (1).
16. Amirdivani, Shabboo, Ahmad Salihin Hj Baba. Green Tea Yogurt: Major Phenolic Compounds and Microbial Growth. *Journal of Food Science and Technology* 52.7 (2015): 4652–4660.
17. Lamothe S, Azimy N, Bazinet L, Couillard C, Britten M. Interaction of green tea polyphenols with dairy matrices in a simulated gastrointestinal environment. *Food Funct.* (2014) Oct;5(10):2621-31.
18. Yu B, Zhu Q, Meng G, Gu Y, Zhang Q, Liu L, Et al. Habitual yoghurt consumption and depressive symptoms in a general population study of 19,596 adults. *Eur J Nutr.* (2017) Aug.

19. FAO|Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [Internet]. Fichas Técnicas: Procesados de Lácteos – Yogurt. Recuperado el 17 de abril de 2018 a partir de: <http://www.fao.org/3/a-au170s.pdf>
20. Jaziri I, Slama MB, Mhadhbi H, Urdaci MC, Hamdi M. Effect of green and black teas (*Camellia sinensis* L.) on the characteristic microora of yogurt during fermentation and refrigerated storage. *Food Chem.* (2009); 112:614–620.
21. Norma Técnica Peruana 202.092:2014 LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS. Leches Fermentadas. Yogurt. Requisitos. [Internet]. Portal INACAL.
22. Georgé, S., P. Brat, P. Alter, and M. J. Amiot. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (2005); 53:1370-1373.
23. Echavarría, Bibiana. Franco, Andrea. Martinez, Alejandro. Antioxidant Activity Evaluation and Phenolic Compound Content Determination of Seaweeds Extracts from the Colombian Caribbean. Vol: 16 N° 1, (2009); Vol: 16 N° 1: 126-131.
24. Anzaldúa Morales, A. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y en la práctica. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España. (1994).
25. CODEX Alimentarius. [Internet] Norma General para Zumos (jugos) y Néctares de frutas. CODEX STAN 247-2005. Pàg. 12. Recuperado el 20 de abril de 2018.
26. A.O.A.C. Official Methods of Analysis 13th Edition, 1984. [Internet] Determinación de Proteínas – Método Kjeldahl. Recuperado el 20 de abril de 2018.
27. Federación Internacional de Lechería. (IDF) Determinación del contenido de la grasa de la leche (método referencial). (1996)
28. Collazos, C. La composición de alimentos de mayor consumo en el Perú. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Nutrición. (1993).

29. A.O.A.C Official Methods of Analysis 19th Edition. Determinación de cenizas. Método 945.46. Cap 33. Pág. 10. (2012)
30. CODEX Alimentarius. [Internet] Norma General para Zumos (jugos) y Néctares de frutas. CODEX STAN 247-2005. Pág. 15. Recuperado el 20 de abril de 2018.
31. Federación Internacional de Lechería. (IDF). Determinación del contenido de sólidos totales (método referencial). (1991)
32. Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF). Microorganismos de los alimentos: principios y aplicaciones específicas. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos. Acribia. (1983); (1): 166-167
33. Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF). Microorganismos de los alimentos: principios y aplicaciones específicas. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos. Acribia. (1983); (1): 131-134
34. Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., y Chandra, N. Radicales libres, antioxidantes y alimentos funcionales: impacto en la salud humana. Pharmacognosy Reviews. (2010); 4 (8), 118-126.
35. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (CMMEF). 5th ed. (2015); 231-233.
36. Norma Técnica Peruana 202.001: 2003. Comisión de Reglamentos Técnicos y Comerciales – INDECOPI. Leche y productos lácteos: Leche cruda y requisitos. 4ta. Edición.
37. Marulanda, Mateo, Granados, Clemente, & García-Zapateiro, Luis Alberto. (2016). Análisis sensorial y estimación fisicoquímica de vida útil de una bebida tipo yogur a base de lactosuero dulce fermentada con *Streptococcus Salivarius* ssp. *Thermophilus* y *Lactobacillus Casei* ssp. *Casei*. Producción + Limpia, 11(1), 94-102. Retrieved October 30, 2018.

38. Parra H. Ricardo A. Efecto del té verde (*Camellia sinensis* L.) en las características fisicoquímicas, microbiológicas, proximales y sensoriales de yogurt durante el almacenamiento bajo refrigeración. *Limentech Ciencia y tecnología alimentaria*. (2013); 11(1): 56-64.
39. CODEX ALIMENTARIUS. Norma General para los aditivos alimentarios. CODEX STAN 192-1995.
40. Trigueros, L., Wojdyło, A., & Sendra, E. Antioxidant Activity and Protein–Polyphenol Interactions in a Pomegranate (*Punica granatum* L.) Yogurt. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. (2014); 62(27), 6417–6425.
41. Jeong, C. H., Ryu, H., Zhang, T., Lee, C. H., Seo, H. G., & Han, S. G. Green tea powder supplementation enhances fermentation and antioxidant activity of set-type yogurt. *Food Science and Biotechnology*. (2018).
42. Homayouni-Tabrizi M, Shabestarin H. Asoodeh A. Soltani M. Identification of Two Novel Antioxidant Peptides from Camel Milk Using Digestive Proteases: Impact on Expression Gene of Superoxide Dismutase (SOD) in Hepatocellular Carcinoma Cell Line. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*. (2016); 22(2), 187-195.
43. Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*. (2010); 4(8), 118.
44. Consumo de Alimentos y Bebidas. INEI: Consumo per cápita de los principales alimentos 2008-2009. Disponible en: https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1028/cap01.pdf
45. Quiñones, M., Miguel, M., Aleixandre, A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp*. 2012; 27 (1): 76-89.

46. Badía E, Sacanella E, Fernández-Solá J, Nicolás JM, Antúnez E, Rotilio D, de Gaetano G, Urbano-Márquez A, Estruch R. Decreased tumor necrosis factor-induced adhesion of human monocytes to endothelial cells after moderate alcohol consumption. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 225-230.
47. Llancari, A., Matos, A. Valoración de los nutrientes y antioxidantes en la salud humana e industria alimentaria. En: Universidad Peruana Unión. I Congreso Nacional de Investigación. Perú, Lima, 2-4 noviembre, 2011.
48. Núñez, A. Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades. *Rev Cubana Salud Pública*. 2011; 37 (suppl.): 644-60.
49. Yang CS, Zhang J, Zhang L, Huang J, Wang Y. Mechanisms of body weight reduction and metabolic syndrome alleviation by tea. *Mol Nutr Food Res*. 2016; 60(1):160-74.
50. Suzuki, Takashi et al. Green Tea Extract Containing a Highly Absorbent Catechin Prevents Diet-Induced Lipid Metabolism Disorder. *Scientific Reports* 3 (2013): 2749.
51. Quiñones, Miguel, Aleixandre. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*. 2012; 27(1): 76-89.
52. Coronado et al. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de Nutrición*. 2015; 42(2): 206-212.

11. ANEXOS

11.1. Determinación de normalidad por graficas de probabilidad normal:

En estos gráficos se pretende comprobar la normalidad, bajo el supuesto de que los datos están distribuidos normalmente. En este grafico P-P para proporciones acumuladas de las variables de aceptabilidad (color, olor, sabor y consistencia) para las cuatro formulaciones de yogurt (TC, T1, T2 y T3) respecto a la distribución normal de prueba, se observa que los datos no se ajustan relativamente bien a la línea recta, lo que sugiere que razonablemente los datos de las variables en estudio no tienen una distribución normal.

Figura 7.

Proporciones acumuladas P-P para atributo

COLOR.

Figura 9.

Proporciones acumuladas P-P para atributo

SABOR.

Figura 8.

Proporciones acumuladas P-P para atributo

OLOR.

Figura 10.

Proporciones acumuladas P-P para atributo

CONSISTENCIA.

11.2. Gráfico de Cuantiles Q-Q:

En este gráfico Q-Q para cuantiles observados de los datos en las variables de aceptabilidad (color, olor, sabor y consistencia) para las cuatro formulaciones de yogurt (TC, T1, T2 y T3) vs los esperados de los cuantiles de una distribución normal, se observa que los datos no se ajustan relativamente bien a la línea recta, lo cual también sugiere que las variables en estudio no están ligadas una distribución normal.

Figura 11.
Cuantiles normales Q-Q
para atributo COLOR.

Figura 13.
Cuantiles normales Q-Q
para atributo SABOR.

Figura 12.
Cuantiles normales Q-Q
para atributo OLOR.

Figura 14.
Cuantiles normales Q-Q
para atributo CONSISTENCIA.

11.3. Consentimiento informado.

Consentimiento para la participación en la evaluación del efecto de la incorporación de *Camellia sinensis* L. (té verde) sobre el contenido de flavonoides, capacidad antioxidante y aceptación sensorial de un yogurt probiótico.

Investigadoras

Alessandra Canale Vásquez

DNI: 73233798

Tamara Michilot Soto

DNI: 74232146

Institución

Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas – Facultad de Ciencias de la Salud

Carrera de Nutrición y Dietética

Somos Alessandra Canale Vásquez y Tamara Michilot Soto, alumnas de la Carrera de Nutrición y Dietética de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas, estamos desarrollando nuestra tesis titulada: “Evaluación del efecto de la incorporación de *Camellia sinensis* L. (té verde) sobre el contenido de flavonoides, capacidad antioxidante y aceptación sensorial de un yogurt probiótico” en el que uno de los objetivos específicos es evaluar la aceptabilidad sensorial del yogurt probiótico a base de *Camellia sinensis* L. (té verde) a diferentes concentraciones.

La evaluación será completamente anónima por lo que, los invitamos a participar en forma voluntaria. De aceptar participar, le pedimos por favor que pruebe las diferentes muestras de yogurt probiótico y evalúe en cada una de ellas los atributos: olor, sabor, color y consistencia, los cuales podrá calificar utilizando la escala que se muestra en la ficha, le pedimos lo haga con total sinceridad.

Tener en cuenta que, si usted es intolerante a la lactosa, sufre de alguna alergia a la proteína de la leche o al té verde, es fumador o esta con medicación actualmente no podrá participar en la investigación. Aunque este estudio no lo beneficiará directamente, su participación es valioso pues nos permitirá determinar el grado de aceptabilidad del yogurt probiótico con té verde añadido. Asimismo, queremos manifestar que al realizar esta prueba de aceptabilidad sensorial su salud no estará bajo ningún riesgo. Si tuviera alguna duda, puede contactar al Dr. Rodrigo Rondón al correo rodrigo.rondon@upc.pe o al teléfono (01) 313-3333, anexo 2678. Asimismo, puede contactarse con las tesisas Alessandra Canale Vásquez al correo u201421990@upc.edu.pe, Tamara Michilot Soto al correo u201412261@upc.edu.pe y con nuestra asesora Saby Inés Zegarra Samamé al correo pcnuszeg@upc.edu.pe

Consentimiento

Fecha: __ / __ / 2018

He leído la información proporcionada por las investigadoras.

Consiento voluntariamente participar de esta investigación y entiendo que tengo derecho a retirarme de la misma si lo creo conveniente.

Nombre del participante _____

DNI _____

Firma del participante

11.4. Instrumento para la recolección de datos para la evaluación de aceptabilidad sensorial

Evaluación del efecto de la incorporación de *Camellia sinensis* L. (té verde) sobre el contenido de flavonoides, capacidad antioxidante y aceptación sensorial de un yogurt probiótico.

FICHA DE EVALUACIÓN SENSORIAL

De las tres (03) muestras de yogurt probiótico con té verde añadido que usted tiene delante y la de control, califíquelas, indicando dentro del recuadro el puntaje (*del 1 al 5*) según corresponda a su aceptabilidad sensorial.

Edad: __ años

Género: F () | M ()

Fecha: 14 / 09 / 2018

Categoría	CÓDIGO: _ _ _				CÓDIGO: _ _ _				CÓDIGO: _ _ _				CÓDIGO: _ _ _			
	Color	Olor	Sabor	Consistencia	Color	Olor	Sabor	Consistencia	Color	Olor	Sabor	Consistencia	Color	Olor	Sabor	Consistencia
5. Me gusta mucho																
4. Me gusta moderadamente																
3. No me gusta ni me disgusta																
2. Me disgusta																
1. Me disgusta mucho																

11.5. Carta de Aprobación del Comité de Ética e Investigación

FCS/061-07-18

Chorrillos, 07 de Julio de 2018

Alumnas

Alessandra Canale Vasquez

Tamara Michilot Soto

Alumnas de la Carrera de Nutrición y Dietética

Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas

Presente.-

PI029-18: Evaluación del efecto de la incorporación de camellia sinensis l (té verde) sobre el contenido de flavonoides, capacidad antioxidante y aceptación sensorial de un yogurt probiótico.

Estimado(s) investigador(es):

Hemos recibido el protocolo de investigación, y los documentos de soporte, los cuales han sido revisados en detalle. Luego de esta revisión, el Comité de Ética e Investigación (CEI) de la Facultad de Ciencias de la Salud ha determinado que este proyecto está **APROBADO** y pueden proceder con su ejecución.

...

UPC

Universidad Peruana de
Ciencias Aplicadas

Avenida Alameda
San Marcos cuadra 2
Chorrillos

Lima 9 – Perú

T 511 313 3333

www.upc.edu.pe

exígete, innova