



INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES
AGROPECUARIAS

Fecha de presentación	Agosto del 2011
Estación Experimental	Santa Catalina
Programa/Departamento	Nutrición y Calidad
Proyecto	Código: 2100527035
Título	Valorización de cultivos y materias primas para respaldar las certificaciones de origen. " Investigar, desarrollar y optimizar procesos tecnológicos agroindustriales para la obtención de productos "
Actividad	<i>Número:</i> R2A1
Título:	Elaboración de una bebida nutritiva y funcional en base a cebada, grano y corontas de maíz negro.
Ubicación	Provincia: Pichincha Cantón: Mejía Parroquia: Cutuglagua Lugar: Estación Experimental Santa Catalina
Autor	Egda. Paola Pazmiño
Co-Autores	Ing. Elena Villacrés (DNC, INIAP) Ing. Gabriel Larrea (IASA) Ing. Martha Vargas (IASA)
Colaboradores	Programa de Maíz Programa de Cereales
Fecha Inicio	septiembre del 2011
Fecha terminación	septiembre del 2012
Presupuesto	\$ 6980,97
Fuente de financiamiento	Fondos fiscales 44,4 %: 3095,37 Tesisista 55,6 %: 3885,6

1. ANTECEDENTES

De los 15 millones de litros tipo refrescos que se consumen en Ecuador, 6,1 millones corresponden al segmento de jugos naturales o néctares. El resto, (8,8 millones) se relaciona con las bebidas aplacadoras de la sed. Estas cifras muestran, que el mercado de bebidas funcionales es una de las áreas de mayor crecimiento en la industria de alimentos y bebidas (Revista Marca Ecuador, 2007).

Las bebidas funcionales, son productos sin alcohol, que contienen en su formulación uno o más ingredientes con la propiedad de mejorar el estado de salud y reducir el riesgo de enfermedades (The British Journal of Nutrition, 2007).

En los últimos años, las bebidas que presentan propiedades benéficas para la salud de los consumidores han tomado gran auge en Japón, en el mercado Europeo y en Ecuador, se empieza a apreciarlos de una manera considerable (Revista Marca Ecuador, Abril 2007). El maíz y la cebada son alimentos básicos a nivel mundial, son utilizados tanto para el consumo humano como para la agroindustria de alimentos y bebidas, ocupando el tercer lugar luego del trigo y el arroz.

El maíz es un cereal importante en la economía nacional, tanto por su incidencia social como económica. Entre los principales tipos de maíz que se cultivan en la sierra del Ecuador se incluyen: cuzco ecuatoriano y canguil, racimo de uva, huandango, morocho, patillo y kcello, ecuatorianos y las variedades que han sido generadas por INIAP, tales como: chaucho, mishca, blanco blandito, guagal, uchima y chulpi (Yáñez, *et ál.*, 2003).

De los tipos mencionados, el maíz nativo “racimo de uva” es de especial interés debido a la existencia de un pigmento natural denominado *cianidina-3-b-glucosa*, el cual pertenece al grupo de las antocianinas, pigmentos que comunican los colores rojo, púrpura y azul a las frutas y vegetales. Constituyéndose en una alternativa para reemplazar a los colorantes sintéticos de uso alimenticio, los cuales son severamente cuestionados, por su relación con el desarrollo de enfermedades degenerativas como algunos tipos de cáncer (Salinas *et ál.*, 2010).

Las antocianinas pertenecen al grupo de los flavonoides, varios frutos ricos en antocianinas evidencian una alta actividad antioxidante contra el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y contra los radicales peróxido, ($ROO\cdot$), superóxido ($O_2\cdot^-$), hidroxilo ($\cdot OH$) y oxígeno (O_2). Estudios realizados con fracciones de antocianinas provenientes del vino han demostrado que éstas son efectivas en atrapar especies reactivas de oxígeno, además inhiben la oxidación de lipoproteínas (Garzón, 2008). En los extractos de las corontas y del grano “racimo de uva”, Almeida *et ál.*,(2011), encontraron importantes contenidos de antocianinas (22,68 y 13,92 m/g, respectivamente). Razón por la que, este tipo de grano podría inscribirse en la categoría de alimento funcional, logrando captar el interés de investigadores en el ámbito de la nutrición y la salud, ya que hoy en día es incesante la búsqueda de alimentos funcionales en una diversidad de plantas (Mazza, 200).

La cebada (*Hordeum vulgare* L.) es un cultivo importante en los sistemas de producción de la sierra ecuatoriana. La provincia de Chimborazo registra la mayor superficie dedicada al cultivo de este cereal con 18000 ha de las 48000 ha que se producen a nivel nacional, seguido por la provincia de Cotopaxi (10000 ha). Gran parte de la cebada cultivada en las comunidades indígenas de estas provincias es utilizada para el autoconsumo, en forma de harina (machica), grano partido (arroz de cebada) y pinol. Los excedentes de la producción son comercializados para obtener ingresos económicos (Falconí *et ál.*, 2010).

Desde el punto de vista nutricional, la cebada es una buena fuente de inositol, vitamina del grupo B, que ayuda a evitar la rigidez de los capilares, además es un tónico cardíaco, ayuda a regular el colesterol, evitar la acumulación de grasa en el hígado, proteger el sistema nervioso y combatir la ansiedad y depresión. El grano también posee otras vitaminas del grupo B, como el ácido fólico y la colina. En materia de minerales, la cebada es buena fuente de potasio, magnesio y fósforo, pero su mayor virtud es la riqueza en microelementos como: hierro, azufre, cobre, cinc, manganeso, cromo, selenio, yodo y molibdeno. Esta composición convierte al grano en alimento recomendado para estados carenciales y del crecimiento, (The British Journal of Nutrition, 2007).

La cebada es el cereal mejor dotado en fibra (6,8 %), especialmente de tipo soluble, constituida por los β -glucanos. Moreano *et ál.*,(2011), determinaron que la concentración de estos compuestos es altamente dependiente del genotipo de grano, registrando los mayores contenidos en los granos cubiertos, como INIAP-Guaranga con 3,74 % e INIAP-Cañicapa con 3,40%. Este tipo de fibra retarda el índice de absorción de la glucosa y reduce la absorción de colesterol. Además la cebada posee otras sustancias benéficas, como los lignanos, que actúan como antioxidantes y protectores del cáncer (The British Journal of Nutrition, 2007).

Una investigación llevada a cabo por el Departamento de Medicina Familiar y Salud Comunitaria de la Universidad de Minnesota (EE.UU.), determinó que los complementos alimenticios a base de β -glucanos pueden considerarse como una opción efectiva para mejorar el perfil de lípidos sanguíneos y bajar el contenido de colesterol. La fibra soluble de la cebada, también protege las mucosas intestinales irritadas y es responsable del efecto hipoglicemiante, en asociación con su buen contenido de cromo (The British Journal of Nutrition, 2007).

Velásquez, (2007), añade que la cebada es un cereal refrescante y desintoxicante, sobre todo a nivel estomacal, intestinal y pulmonar. El germen es rico en hordeína, que actúa como antiséptico intestinal, útil en los casos de enteritis, colitis, diarreas, cólera e infecciones varias. El agua de cebada ha sido parte de la medicina tradicional en el tratamiento de afecciones intestinales, la desintoxicación del bazo y los riñones. La cebada también contiene tocotrienoles, que bloquean la producción hepática del colesterol de baja densidad (LDL).

2. JUSTIFICACIÓN

La industria de bebidas en el país, experimenta una creciente demanda de nuevos productos conforme la tendencia del consumidor hacia estilos de vida más saludables y orientados al bienestar. En respuesta a estas nuevas exigencias, se aprovechará las propiedades del maíz negro y la cebada para desarrollar una bebida con efectos beneficiosos para la salud, sin afectación de las propiedades nutritivas y organolépticas.

En el maíz negro y en la coronta existen antocianinas y taninos, compuestos con actividad antioxidante, uno de los modos de acción más importantes para la prevención de las principales enfermedades degenerativas relacionadas con la edad. Las corontas presentan un mayor aporte de antocianinas que el grano, lo cual representa una oportunidad para valorizar su uso, disminuir los desechos de la cosecha y elevar el valor económico del grano. Mientras que la cebada comparte con la avena la riqueza en un tipo de fibra soluble, denominada β -glucanos, que ha demostrado ser eficaz en la reducción del colesterol de baja densidad.

Por medio de esta investigación también se pretende estimular la producción del maíz negro, ya que su presencia comercial en los mercados es limitada y su frecuencia de consumo ha disminuido considerablemente en la población, posiblemente debido a las características intrínsecas de este tipo de grano, entre ellas el color, que para muchos no resulta atractivo; otro factor que ha limitado el consumo de esta especie es el desconocimiento de la composición química y propiedades funcionales relacionadas con la prevención de ciertas enfermedades.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Aprovechar las propiedades de la cebada, el grano y las corontas del maíz negro, en la elaboración de una bebida con propiedades nutritivas y funcionales.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar los parámetros óptimos para el malteo del maíz negro (*Zea mays* L.) y la cebada (*Hordeum vulgare*)
2. Determinar la formulación apropiada de los diferentes componentes, para la elaboración de una bebida con propiedades nutritivas y funcionales.
3. Evaluar las características físicas, el perfil nutricional y funcional de la bebida obtenida.
4. Determinar la vida útil de la bebida almacenada en condiciones ambientales
5. Estimar el costo de producción de la bebida, a nivel de laboratorio

HIPOTESIS DE TRABAJO

Nula (H_0): la combinación del maíz negro con la cebada no permite obtener una bebida con propiedades nutritivas y funcionales.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales

- Maíz negro, línea promisorio "racimo de uva", proporcionada por el Programa de maíz, EESC.
- Cebada, variedad INIAP - Cañicapa
- Corontas de maíz negro
- Germinador
- Tanque de remojo
- Piña (*Anana comosus*)
- Maracuyá (*Passiflora edulis* Sims)
- Canela (*Cinnamomun zeylanicum*)
- Tostador

4.2 Reactivos

Solución indicadora de fenolftaleína, hidróxido de sodio al 98%, carbonato de sodio al 20%, metanol al 70 %, ácido gálico, ácido clorhídrico 37% p.a., ácido nítrico 65% p.a., ácido ascórbico, ácido sulfúrico al 7%, hidróxido de sodio al 22 %, antiespumante: alcohol isoamílico.

4.3 Equipo y materiales de laboratorio

Kits para la determinación beta-glucanos, espectrofotómetro Shimadzu UVVIS, balanza analítica, placa de agitación, papel filtro cualitativo, balones aforados, pipetas volumétricas, Kits para determinación de vitamina C, placas petri film, pipetas, matraz de 250 ml, contador de colonias Québec.

5. METODOLOGÍA

Características del Sitio Experimental

- Laboratorio de Nutrición y Calidad, INIAP, Estación Santa Catalina

Ubicación

Provincia:	Pichincha.
Cantón:	Mejía.
Parroquia:	Cutuglagua.
Lugar:	Km 1, Panamericana Sur, vía Quito-Aloag

Situación Geográfica

Altitud: 3058 m
Latitud: 00°22'S.
Longitud: 78°23'O
Temperatura promedio en Laboratorio 17°C

Fuente: Cabezas, (2002).

5.1 Determinación de los parámetros óptimos para el malteo de la cebada y el maíz

Debido a la anatomía, morfología y composición química particular de cada especie, se determinarán separadamente los parámetros para el desarrollo y activación del sistema enzimático y modificación de sus reservas alimenticias.

Factores en estudio para el malteo del maíz negro

Cuadro 1. Factores en estudio para determinar las condiciones apropiadas para el malteo del grano de maíz

Factor	Descripción	Descripción del Nivel	Nivel
A	Tiempo de remojo (h)	24	a ₀
		48	a ₁
		72	a ₂
B	Tiempo de germinación (h)	48	b ₀
		72	b ₁

Cuadro 2. Factores en estudio para determinar las condiciones apropiadas para el malteo del grano de cebada

Factor	Descripción del Factor	Descripción del Nivel	Nivel
A	Tiempo de remojo (h)	12	a ₀
		24	a ₁
B	Tiempo de germinación (h)	48	b ₀
		72	b ₁

De la combinación de los factores en estudio a diferentes niveles, se obtienen los siguientes tratamientos:

Cuadro 3. Tratamientos para la determinación de las condiciones apropiadas para el malteo del maíz negro

Tratamiento		Descripción
T1	a_0b_0	24 h de remojo, 48 h germinación
T2	a_0b_1	24 h de remojo, 72 h germinación
T3	a_1b_0	48 h de remojo, 48 h germinación
T4	a_1b_1	48 h de remojo, 72 h germinación
T5	a_2b_0	72 h de remojo, 48 h de germinación
T6	a_2b_1	72 h de remojo, 72 h de germinación

Cuadro 4. Tratamientos para la determinación de las condiciones apropiadas para el malteo de la cebada

Tratamiento		Descripción
T1	a_0b_0	12 h de remojo, 48 h germinación
T2	a_0b_1	12 h de remojo, 72 h germinación
T3	a_1b_0	24 h de remojo, 48 h germinación
T4	a_1b_1	24 h de remojo, 72 h germinación

Unidad experimental: muestras de 80 g para cada especie de grano

Tipo de diseño: Para el maíz, se aplicará un diseño completamente al azar en arreglo factorial 3x2 con 3 repeticiones.

Cuadro N 5. Esquema del análisis de varianza para la determinación de las condiciones de proceso para el malteo del grano de maíz

Fuente de variación	Grados de libertad	
Total	(axb_xr-1)	17
Tratamientos	$(axb-1)$	5
Factor A (tiempo remojo)	$(a-1)$	2
Factor B (tiempo germinación)	$(b-1)$	1
Efecto A*B	$(a-1)(b-1)$	2
Repeticiones	$(r-1)$	2
Error	$(axb-1)(r-1)$	10

Cuadro N 6. Esquema del análisis de varianza para la determinación de las condiciones de proceso para el malteo de la cebada

Fuente de variación	Grados de libertad	
Total	$(axb-r-1)$	11
Tratamientos	$(axb-1)$	(3)
repeticiones	$(r-1)$	2
Factor A (tiempo remojo)	$(a-1)$	1
Factor B (tiempo germinación)	$(b-1)$	1
Efecto A*B	$(a-1)(b-1)$	1
Error	$(axb-1)(r-1)$	6

Análisis funcional

Para los factores e interacciones significativas se aplicará la prueba de Tukey al 5 %.

Métodos y variables de evaluación

- Coeficiente de hidratación (Guzmán, 1995; BIC, 2005)

Principio: Este coeficiente refleja el incremento de peso de los granos luego del remojo con respecto al peso fresco inicial. El coeficiente de hidratación es un indicador rápido del grado de hidratación del grano, previo al proceso térmico.

- Velocidad de hidratación (BIC, 2005)

Principio: Se cuentan 100 granos de grano de tamaño similar, los cuales son pesados y posteriormente remojados en agua (ajustada, a 100 ppm de calcio), a temperatura ambiente, en intervalos de 1 hora con una relación grano:agua igual a 3:10.

En cada hora de remojo, los granos son inmediatamente removidos del agua, escurridos, y pesados. Se vuelve a repetir el procedimiento cuantas veces sea necesario hasta que el coeficiente de humedad sea igual o mayor a 1,8.

Crecimiento del acróspiro: Se mide la longitud del acróspiro en milímetros, con la ayuda de un paquímetro.

Manejo específico del experimento

Los granos de maíz y cebada, separadamente serán sometidos a ensayos de remojo, con el fin de determinar el tiempo necesario para alcanzar un 45 % de humedad, nivel necesario para iniciar el proceso de germinación. El remojo se realizará en un tanque de acero inoxidable, provisto de agitación y a una temperatura de 16°C.

El grano húmedo será germinado, en un equipo *Barber Colman* a 16°C, 100 % de humedad relativa y velocidad de rotación de 4 rpm. Cada 12 horas se monitoreará el crecimiento del acróspiro hasta alcanzar el tamaño del grano, cuando se detendrá el

proceso a través del tostado, siguiendo un programa de temperatura que inicia en 30°C y finaliza a 70°C.

5.2 Determinación de la formulación apropiada para la elaboración de una bebida con propiedades nutricionales y funcionales

Cuadro 7. Factores en estudio para la determinación de la formulación apropiada para la elaboración de la bebida.

Factor	Descripción	Nivel	Descripción del nivel
A	Relación maíz-cebada malteados: corontas	a ₁	4:4:2
		a ₂	6:2:2
		a ₃	2:6:2
B	Saborizante del agua de maceración	b ₁	piña
		b ₂	maracuyá
		b ₃	canela
		b ₄	sin sabor
C	Relación granos malteados-corontas: Agua de maceración	c ₁	1:6
		c ₂	1:7
		c ₃	1:8

Cuadro 8. Tratamientos para la determinación de la formulación apropiada para la elaboración de la bebida

Tratamiento	Interacciones	Descripción
T1	a ₁ b ₁ c ₁	4% cebada, 4% maíz negro, 2% corontas: agua de maceración con piña, relación 1:6
T2	a ₁ b ₁ c ₂	4% cebada, 4% maíz negro, 2% corontas, agua de maceración con piña, relación 1:7
T3	a ₁ b ₁ c ₃	4% cebada, 2% corontas, 4% maíz negro, agua de maceración piña, relación 1:8
T4	a ₁ b ₂ c ₁	4% cebada, 2% corontas, 4% maíz negro, agua de maceración con maracuyá, relación 1:6
T5	a ₁ b ₂ c ₂	4% cebada, 2% corontas, 4% maíz negro, agua de maceración con maracuyá, relación 1:7
T6	a ₁ b ₂ c ₃	4% cebada, 2% corontas, 4% maíz negro, agua de maceración con maracuyá, relación 1:8
T7	a ₁ b ₃ c ₁	4% cebada, 2% corontas, 4% maíz negro, agua de maceración con canela, relación 1:6

T8	a ₁ b ₃ c ₂	4% cebada, 2% corontas, 4% maíz negro, agua de maceración con canela, relación 1:7
T9	a ₁ b ₃ c ₃	4% cebada, 2% corontas, 4% maíz negro, agua de maceración con canela, relación 1:8
T10	a ₁ b ₄ c ₁	4% cebada, 2% corontas, 4% maíz negro, agua de maceración sin sabor, relación 1:6
T11	a ₁ b ₄ c ₂	4% cebada, 2% corontas, 4% maíz negro, agua de maceración sin sabor, relación 1:7
T12	a ₁ b ₄ c ₃	4% cebada, 2% corontas, 4% maíz negro, agua de maceración sin sabor, relación 1:8
T13	a ₂ b ₁ c ₁	2% cebada, 2% corontas, 6% maíz negro, agua de maceración con piña, relación 1:6
T14	a ₂ b ₁ c ₂	2% cebada, 2% corontas, 6% maíz negro, agua de maceración con piña, relación 1:7
T15	a ₂ b ₁ c ₃	2% cebada, 2% corontas, 6% maíz negro, agua de maceración con piña, relación 1:8
T16	a ₂ b ₂ c ₁	2% cebada, 2% corontas, 6% maíz negro, agua de maceración con maracuyá, relación 1:6
T17	a ₂ b ₂ c ₂	2% cebada, 2% corontas, 6% maíz negro, agua de maceración con maracuyá, relación 1:7
T18	a ₂ b ₂ c ₃	2% cebada, 2% corontas, 6% maíz negro, agua de maceración con maracuyá, relación 1:8
T19	a ₂ b ₃ c ₁	2% cebada, 2% corontas, 6% maíz negro, agua de maceración con canela, relación 1:6
T20	a ₂ b ₃ c ₂	2% cebada, 2% corontas, 6% maíz negro, agua de maceración con canela, relación 1:7
T21	a ₂ b ₃ c ₃	2% cebada, 2% corontas, 6% maíz negro, agua de maceración con canela, relación 1:8
T22	a ₂ b ₄ c ₁	2% cebada, 2% corontas, 6% maíz negro, agua de maceración sin sabor, relación 1:6
T23	a ₂ b ₄ c ₂	2% cebada, 2% corontas, 6% maíz negro, agua de maceración sin sabor, relación 1:7
T24	a ₂ b ₄ c ₃	2% cebada, 2% corontas, 6% maíz negro, agua de maceración sin sabor, relación 1:8
T25	a ₃ b ₁ c ₁	6% cebada, 2% corontas, 2% maíz negro, agua de maceración con piña, relación 1:6
T26	a ₃ b ₁ c ₂	6% cebada, 2% corontas, 2% maíz negro, agua

		de maceración con piña, relación 1:7
T27	a ₃ b ₁ c ₃	6% cebada, 2% corontas, 2% maíz negro, agua de maceración con piña, relación 1:8
T28	a ₃ b ₂ c ₁	6% cebada, 2% corontas, 2% maíz negro, agua de maceración con maracuyá, relación 1:6
T29	a ₃ b ₂ c ₂	6% cebada, 2% corontas, 2% maíz negro, agua de maceración con maracuyá, relación 1:7
T30	a ₃ b ₂ c ₃	6% cebada, 2% corontas, 2% maíz negro, agua de maceración con maracuyá, relación 1:8
T31	a ₃ b ₃ c ₁	6% cebada, 2% corontas, 2% maíz negro, agua de maceración con canela, relación 1:6
T32	a ₃ b ₃ c ₂	6% cebada, 2% corontas, 2% maíz negro, agua de maceración con canela, relación 1:7
T33	a ₃ b ₃ c ₃	6% cebada, 2% corontas, 2% maíz negro, agua de maceración con canela, relación 1:8
T34	a ₃ b ₄ c ₁	6% cebada, 2% corontas, 2% maíz negro, agua de maceración sin sabor, relación 1:6
T35	a ₃ b ₄ c ₂	6% cebada, 2% corontas, 2% maíz negro, agua de maceración sin sabor, relación 1:7
T36	a ₃ b ₄ c ₃	6% cebada, 2% corontas, 2% maíz negro, agua de maceración sin sabor, relación 1:8

Cuadro 9. Esquema del análisis de varianza para la determinación de la formulación apropiada para la elaboración de la bebida funcional

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	107
Tratamientos	35
Repeticiones	2
Relación granos malteados: corontas (a-1)	2
Saborizante del agua de maceración (b-1)	3
Granos malteados: corontas-saborizante en el agua de maceración (a-1) (b-1)	6
Relación granos malteados-corontas-agua de	2

maceración (c-1)	
(a-1)* (c-1)	4
(b-1)* (c-1)	6
(a-1)*(b-1)*(c-1)	12
Error (a*b*c - 1)(r-1)	70

Análisis funcional

Para los factores e interacciones significativas se aplicará la prueba de Tukey al 5 %.

Variables respuesta

- Contenido de sólidos solubles (° Brix). Método (932.12). A.O.A.C. (1998)

Principio: La propiedad de un jugo azucarado es desviar la luz (refracción), a través de la cual se estima el contenido de azúcares. Se ha convenido en denominar azúcares, sólidos solubles totales (S.S.T), o índice refractométrico (IR) o grados Brix, al porcentaje de materia seca soluble contenida en el mosto o bebida.

Se utiliza un refractómetro manual *ATAGO HSR – 500* con escala de lectura graduada en 0.2 unidades. Luego de la filtración y homogeneización, se vierten algunas gotas del mosto o bebida sobre el prisma del refractómetro y se coloca el aparato frente a una fuente de luz. La lectura se hace sobre la escala del ocular, en el punto de intersección de las zonas clara y oscura.

- Vitamina C, (Merck, 1996)

Principio: El ácido ascórbico reduce al ácido molibdofosfórico amarillo a azul de fosfomolibdeno, cuya concentración se determina por reflectometría. Luego de introducir la varilla analítica en la zona de reacción durante aproximadamente dos segundos, el equipo muestra la lectura en mg/l.

- Turbidez: Se determinará a través de mediciones espectrofotométricas, expresando el resultado en unidades FAU.
- Acidez: Método 942.15. A.O.A.C., (1998)
Principio: La determinación se basa en una reacción de neutralización ácido-base, para lo cual la muestra se coloca y se titula con solución de NaOH 0,1 N, en presencia de indicador fenolftaleína.

Unidad experimental: 1 litro de bebida funcional por cada tratamiento

Tipo de diseño: Diseño completamente al azar, en arreglo factorial 3x4x3 con 3 repeticiones.

Manejo específico del experimento

El líquido para la elaboración de los mostos se preparará a partir de la cocción de la fruta en agua, durante 15 minutos, a una concentración de 100 g/l; en el caso de la canela se utilizará una concentración de 10 g/l. El líquido se dejará enfriar y se añadirán los granos malteados y las corontas molidas, en proporciones de 1:6, 1:7, 1:8. El proceso de maceración iniciará al formarse una pasta con el agua a 45°C y agitación de 80-100 rpm. Durante este período de peptonización que durará 30 minutos, además de liberarse los almidones y las proteínas solubles, se activarán las enzimas proteolíticas, que hidrolizarán las proteínas de peso molecular elevado e intermedio. Después de este período de elevada peptonización se incrementará la temperatura 1°C por minuto hasta alcanzar 70°C, temperatura óptima de actuación de las enzimas diastásicas alfa y beta-amilasas, las que actuarán sobre los gránulos de almidón hinchados, reventándolos y dispersando las moléculas de amilosa y amilopectina a través del agua. A 70°C la licuefacción del almidón presentará la mayor conversión en azúcares fermentables. Una vez alcanzado este nivel térmico, la temperatura se mantendrá por 60 minutos, hasta la completa conversión del almidón. Finalizada esta reacción, se enfriarán los mostos a 20°C y se centrifugarán a 3500 rpm durante 15 minutos para obtener una bebida clara y brillante.

El análisis de las variables respuesta, orientará la selección de 4 tratamientos con el mayor contenido de vitamina C, sólidos solubles (° Brix) y acidez titulable, con los que se procederá a realizar una evaluación sensorial, caracterización física, perfil nutricional y funcional.

5.3 Evaluación de las características organolépticas, físicas, perfil nutricional y funcional

5.3.1 Caracterización organoléptica

Factor en estudio: Aceptabilidad global de las formulaciones

Número de catadores semientrenados: 10

Cuadro 10. Representación de las respuestas experimentales en un diseño de bloques

Catadores (bloques)	Tratamientos			
	T1	T2	T3	T4
Catador 1				
Catador 2				
.				
.				
Catador 10				

Cuadro 11. Esquema del análisis de varianza para la determinación del nivel de aceptabilidad de las formulaciones seleccionadas

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamientos (k-1)	3
Bloques (n-1)	9
Error k(n-1)	36
Total (kn-1)	39

Análisis funcional

Para los tratamientos significativos, se aplicará la prueba de la Diferencia Mínima Significativa, DMS, al 5 %.

Variables respuesta

- Calificaciones promedio del nivel de aceptabilidad

Unidad experimental: 1 litro de bebida funcional por cada tratamiento

Tipo de diseño: Diseño de bloques completos al azar, con dos repeticiones

Manejo específico del experimento

La aceptabilidad global, se determinará mediante pruebas orientadas al consumidor, con 10 catadores semientrenados. Se evaluarán los atributos: color, apariencia y sabor, que en conjunto definen la aceptabilidad global del producto. La escala de evaluación comprende 5 categorías, con su respectiva equivalencia en puntajes numéricos como se muestra en el Anexo 1. Se seleccionará el tratamiento de mayor aceptabilidad.

5.3.2. Caracterización física, perfil nutricional y funcional

Cuadro 12. Tratamientos para determinar el efecto de la formulación*, sobre las características físicas, nutricionales y funcionales de la bebida

Tratamientos	Formulación
T1	Formulación 1
T2	Formulación 2
T3	Formulación 3
T4	Formulación 4

* Seleccionada en 5.2

Unidad experimental

Estará constituida por 1 litro de bebida, por cada formulación en estudio

Tipo de diseño

Se aplicará un diseño completamente al azar, DCA, con 3 observaciones por tratamiento

Análisis estadístico

Cuadro13. Esquema del análisis de varianza para determinar el efecto de la formulación, sobre las características físicas, nutricionales y funcionales de la bebida

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	11
Tratamientos	3
Error	8

Análisis funcional

Para los tratamientos, se aplicará la prueba de Tukey al 5 %

Variables y métodos de evaluación

- Viscosidad: (COVENIN, 1979)

Principio: Este método se basa en medir el tiempo de flujo (en segundos) de la muestra, a través de un tubo de vidrio del viscosímetro capilar de dimensiones estándar.

- Densidad: (Alvarado & Aguilera, 2001)

Principio: Las bebidas se termostatan a 20° C, luego se vierten en probetas de 250 ml, en ellas se sumerge el densímetro hasta que su flotación se estabilice, sin tocar el fondo de la probeta. Se toma la lectura en la marca correspondiente.

- Sólidos totales

Principio: Se determina por gravimetría, para lo cual 25 gramos de jugo se pesan en cajas Petri previamente taradas, se someten a desecación por 12 horas en estufa a 105°C. Las cajas se retiran de la estufa, se enfrían y se pesan, obteniéndose el contenido de sólidos de la relación peso de muestra seca a peso de muestra húmeda.

- Componentes del color: A través de mediciones en el colorímetro *Expectro color*

Principio: El color superficial de las muestras es medido en el colorímetro, registrándose los valores: L (0=negro, 100= blanco), aL (+ valores= rojo, - valores= verde), y bL (+ valores= amarillo, - valores= azul). La diferencia de color total (ΔE) es calculada a partir de los valores medidos.

- acidez titulable
- B-glucanos A.O.A.C. Método 995.16 (2000)

Principio: Las muestras se suspenden y se hidratan en solución buffer de pH 6,5 y se incuban con la enzima purificada y se filtra. Una alícuota del filtrado es entonces hidrolizada hasta el final y purificada. La D-glucosa producida se analiza utilizando una glucosa oxidasa / peroxidasa reactivo.

- Polifenoles totales

Principio: Los polifenoles totales se determinan mediante un método espectrofotométrico utilizando el reactivo Folin & Ciocalteu's, el cual produce una coloración azul cuando reacciona con este tipo de compuestos, que se absorben a una longitud de onda de 760 nm. El contenido total de polifenoles se expresa en mg de ácido gálico/100 g de muestra.

- Antocianinas: (Huang, 2006)

Principio: El método espectrofotométrico se basan en la medida de la absorbancia a una longitud de onda máxima, para una dilución del extracto de los materiales, con un disolvente ácido.

- Taninos: (A.O.A.C., 1964)

Principio: La determinación de taninos se realiza en una muestra libre de grasas y pigmentos, en un extracto acuoso, el cual reacciona con el reactivo Folin-Denis en medio alcalino. Se utiliza ácido tánico como estándar y se realizan las lecturas en un espectrofotómetro UV- VIS a 680 nm.

- **Contenido de minerales totales:** Método A.O.A.C. (1998)

Principio: La muestra se incinera en una mufla a 600° C, previa pre-calcinación en la placa calentadora, para eliminar todo material orgánico. El material inorgánico que no se destruye se llama ceniza o residuo remanente.

Manejo específico del experimento

Se analizará las características físicas (viscosidad, densidad, componentes del color), químicas (contenido de minerales totales) y funcionales (β -glucanos, polifenoles totales, antocianinas, taninos) en el tratamiento de mayor aceptabilidad sensorial, determinado en 5.3.1, siguiendo la metodología específica para cada parámetro.

5.4 Determinación de la vida útil de la bebida almacenada en condiciones ambientales

Cuadro 14. Tratamientos para la determinación de la vida útil de la bebida funcional

Tratamientos	Descripción
T1	Bebida funcional con inclusión de sorbato de potasio
T2	Bebida funcional pasteurizada
T3	Bebida funcional con CO ₂
T4	Bebida funcional sin tratamiento de preservación

Unidad experimental: estará constituida por 500 ml de bebida en envases Pet.

Tipo de diseño: Se aplicará un diseño completamente al azar con 3 observaciones por tratamiento.

Cuadro 15. Esquema del análisis de varianza para la determinación de la vida útil de la bebida funcional.

Fuente de Variación	Grados de libertad
Total	11
Tratamientos	3
Error	8

Variables respuesta

- Acidez: Método 942.15. A.O.A.C., (1998)
- Color : A través de mediciones en el colorímetro *Expecto color*
- Antocianinas: (Huang, 2006)

- Recuento de hongos y levaduras: Según el método 3M Center, Building 247-5w-05 St. Paul, MN55144-1 000)

Principio: Un indicador colorea las colonias para dar contraste y facilitar el recuento. Las colonias de levaduras son: pequeñas, de bordes definidos, cuyo color varía de rosado oscuro a verde-azul, tridimensional, usualmente aparecen en el centro. Las colonias de mohos son: grandes bordes difusos de color variables (el moho puede producir su pigmento propio), planos, usualmente presentan un núcleo central.

- Análisis sensorial: Se realizará a través de una análisis comparativo entre dos muestras frescas y una almacenada.

Análisis funcional

Para los tratamientos significativos se aplicará la prueba de Tukey al 5 %

Manejo específico del experimento

La bebida será procesada separadamente según los tratamientos especificados en el Cuadro 10. El sorbato de potasio, se aplicará en la bebida fría, a una concentración de 0,1 % (p/v). La pasteurización se realizará a 63°C por 30 minutos, a cuyo término, el producto será enfriado rápidamente. La gasificación se realizará mediante inyección de CO₂, en la bebida a 5°C, a una presión de 1 atm, durante 1 minuto. Las bebidas tratadas y no tratadas (blanco), serán dispuestas en envases Pet, provistos de Tapas *Hinge Lok II*, corte 360° y almacenadas bajo condiciones ambientales, a una temperatura promedio de 17°C y 65 % de humedad relativa. Para los análisis mencionados, se tomarán muestras cada 10 días durante dos meses. Las muestras serán preparadas de acuerdo a los requerimientos específicos de cada análisis.

5.5 Estimación del costo de producción de la bebida, a nivel de laboratorio.

Se cuantificará el costo de la materia prima, el proceso y el envase. Se aplicará el método de presupuesto parcial, basado en los elementos del Cuadro N° 16.

Cuadro 16. Elementos para la determinación de los costos de producción de la bebida funcional

Tratamiento	T
Rendimiento = $P_i - P_f / 100$	
BB = $P_c - P_f$	
CqV(costos que varían)	
Costo de la materia prima	
Costo del proceso	
Costo de envases	
Jornal	
ΣCqV	
BN = $BB - CqVc/t$	

BB= beneficio bruto Pc= Precio comercial T = tratamiento
P i= Precio inicial Pf = Precio final BN = Beneficio neto

6. Cronograma

No.	Actividad	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Recopilación de información												
2	Ensayos previos para la elaboración de una bebida funcional												
3	Elaboración del perfil de investigación												
4	Determinación de los parámetros óptimos para el malteo de la cebada y el maíz												
5	Determinación de la formulación apropiada para la elaboración de una bebida.												
6	Evaluación de las características físicas, el perfil nutricional y funcional de la bebida obtenida												
7	Determinación la vida útil de la bebida almacenada en condiciones ambientales												
8	Estimación del costo de producción de la bebida a nivel de laboratorio.												
9	Escritura y correcciones del proyecto												
10	Defensa del proyecto												

7. PRESUPUESTO

CATEGORIA DE GASTOS	CANTIDAD	COSTO UNITARIO \$	COSTO TOTAL \$
A. Personal			
Tesista	1	323,8	3885,6
B. Recursos variables			
B.1 Materiales (proyecto)			
Maíz negro	2 qq	60	120
Cebada	2 qq	18	36
Envases Pet	100	0,007	7
Piñas	20 unid.	1	20
Maracuyá	100 unid.	0,20	20
Canela	1 Kg	5	5
Etiquetas	100	0,15	15
Materiales para análisis sensorial	200	0,50	100
B.2 Análisis de laboratorio			
Kit determinación vitamina C	72	1,30	93,6
Kit beta-glucanos	2	400	800
Minerales totales	4	45	180
Análisis de color	72	5	360
B.3 Reactivos			
Solución indicadora de fenolftaleína alcohólica 2%	100 ml		15,30
Solución estándar de hidróxido de sodio 0.1N	1l		50
Solución estándar de 10 ppm de Calcio	1kg		27,30
Solución de carbonato de sodio al 20%	1kg		74,00
Metanol al 70 %	1l		45,38
Solución estándar de ácido gálico	1kg		201,50
Acido clorhídrico 37% p.a	1l		48,95
Acido nítrico 65% p.a	100ml		48,80
Acido ascórbico	100 g		114
CO ₂ (para envasado de alimentos)	40 kg	60	120
B.4 Materiales de oficina (proyecto)			
cartucho de impresora	4	35	140
CD recargable	7	2,5	17,5
Papel (hojas)	1000	0,04	40
C. Publicación			
Tesis	8 unidades	6	64
SUBTOTAL			6648,55
Imprevistos (5%)			332,42
TOTAL			6980,97

8. BIBLIOGRAFÍA

- Almeida, F. 2011. Extracción y caracterización del colorante del Maíz negro (*Zea mays* L.). Tesis, Escuela Politécnica Nacional, Facultad de Ingeniería química y Agroindustria. 150 p. (En prensa).
- Alvarado, J; Aguilera, J. 2001. Métodos para medir propiedades físicas e industriales de alimentos. España. Editorial Acribia, S. A. pp. 157, 329.
- A.O.A.C (Association of Official Analytical Chemist), 1964, 1998, 2000. Peer Verifed Methods. Manual on policies and procedures, Arlington, Estados Unidos.
- BIC (Been Improvement Cooperative), 2005, "Bean Processing". <http://www.css.msu.edu/bic/PDF/Bean Processing.pdf> . Consultado Marzo, 2010
- Cabezas A, L. 2002. Fuente de conocimiento y tecnologías agropecuarias para la competitividad, INIAP. Quito-Ecuador, pág. 29. Publicación Miscelánea N°108.
- COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales), 1979, Normas Venezolanas, Caracas, Venezuela.
- Falconí E; Garofalo J; Llangari P. 2010. El Cultivo de Cebada: Guía para la producción artesanal de semillas de calidad, INIAP-EESC-Programa de Cereales. Quito – Ecuador.
- Garzón GA, 2008. Las antocianinas como colorante naturales y compuesto bioactivos: revisión, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia. (en línea).Bogotá-Colombia. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-548X2008000300002&script=scarttext>
- Guzmán, S., Acosta, J., Álvarez, M., García, S., Loarca, G., 2002, "Calidad Alimentaria y Potencial Nutracéutico del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)", Agricultura Técnica en México, Vol. 28, 159.
- Huang., Y., Chang, Y., Shao, Y., 2006, "Effects of genotype and treatment on the antioxidant activity of sweet potato in Taiwan", en *Food Chemistry*, vol. 98, pp. 539-537
- Mayorga, V. 2010. Estudio de las propiedades reológicas y funcionales del maíz nativo "racimo de uva". Tesis previa a la obtención del título de Ingeniero en alimentos otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en alimentos. 180 p.
- Mazza, G. 2000. "Alimentos funcionales". Aspectos bioquímicos y de procesado. Zaragoza-España. pp. 299-301.
- Moreano F, Villacrés E y Rodríguez R 2011. Determinación del contenido de beta- glucanos en líneas avanzadas en variedades de cebada procesada y no procesada, por medio de un método enzimático. Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, 5p. (En prensa).
- Revista Marca Ecuador, 2007. Grupo Vistazo. Consultado 10 de Junio del 2011. Disponible en: www.scribd.com/doc/.../19/Exportaciones-del-Ecuador
- Salinas Y, Rubio D y Díaz A. 2010. Extracción y uso de pigmentos del grano de maíz (*Zea Mays* L.) como colorantes en yogur, Universidad Autónoma Chapingo.

Chapingo, Méx. Disponible: http://www.alanrevista.org/ediciones/2005-3/pigmentos_maiz_colorantes_yogur.asp

- "The British Journal of Nutrition", 2007. Consultado 8 de Mayo del 2011. Disponible en: <http://www.prama.com.ar/alimentos>
- Velásquez G. 2007. Aditivos en los productos comestibles funciones, origen y efectos secundarios. Consultado 6 marzo 2011. Disponible en <http://ponce.inter.edu/cai/reserva/qvelazquez/aditivos.html>
- Yáñez G. C, Zambrano M. JL, Caicedo V. M, Sánchez A, VH, Heredia C. J. 2003. Catalogo de recursos genéticos de maíces de altura ecuatorianos, INIAP-EESC-Programa de Maíz. Quito-Ecuador

9. ANEXOS

Determinación de aceptabilidad global

PRUEBA DE ACEPTABILIDAD GLOBAL DE UNA BEBIDA FUNCIONAL

Consumidor N° _____ Sexo _____ Edad _____ Fecha _____

Ud. va a recibir 4 muestras de una bebida funcional a base de cebada malteada, maíz negro malteado y corontas de maíz negro; cada muestra estará codificada con números de 3 dígitos al azar.

Primero deberá observar la muestra y luego probarla

Finalmente deberá indicar en cada una de las escalas su opinión.

MUESTRA No. _____

Preferencia global:

De un puntaje global del 1 al 10, siendo 1= me disgusta mucho y 10=me gusta mucho.

Puntaje global:

Color: Observe el color de la muestra

Muy claro Ideal Muy oscuro

Olor: Perciba el olor de la muestra

Muy débil Ideal Muy fuerte

Sabor: Pruebe la muestra

Me disgusta mucho Me es indiferente Me gusta mucho

Apariencia: Observe la muestra

Me disgusta mucho Me es indiferente Me gusta mucho

Marque con una X los términos que asocia con esta bebida:

<input type="checkbox"/>	sabor agradable	<input type="checkbox"/>	cuando tengo sed	<input type="checkbox"/>	buen color	<input type="checkbox"/>	la tomaria
<input type="checkbox"/>	sabor feo/raro	<input type="checkbox"/>	sabor a canela	<input type="checkbox"/>	color artificial	<input type="checkbox"/>	no la tomaria
<input type="checkbox"/>	poco sabor	<input type="checkbox"/>	sabor a pina	<input type="checkbox"/>	para todo momento	<input type="checkbox"/>	me disgusta
<input type="checkbox"/>	sabor fuerte	<input type="checkbox"/>	sabor a maracuya	<input type="checkbox"/>	color agradable	<input type="checkbox"/>	me gusta
<input type="checkbox"/>	acido	<input type="checkbox"/>	sin sabor	<input type="checkbox"/>	color desagradable	<input type="checkbox"/>	muy solida

MUESTRA No. _____

Preferencia global:

De un puntaje global del 1 al 10, siendo 1= me disgusta mucho y 10=me gusta mucho.

Puntaje global:

Color: Observe el color de la muestra

Muy claro

Ideal

Muy oscuro

Olor: Perciba el olor de la muestra

Muy débil

Ideal

Muy fuerte

Sabor: Pruebe la muestra

Me disgusta
mucho

Me es
indiferente

Me gusta
mucho

Apariencia: Observe la muestra

Me disgusta
mucho

Me es
indiferente

Me gusta
mucho

Marque con una X los términos que asocia con esta bebida:

<input type="checkbox"/>	sabor agradable	<input type="checkbox"/>	cuando tengo sed	<input type="checkbox"/>	buen color	<input type="checkbox"/>	la tomaria
<input type="checkbox"/>	sabor feo/raro	<input type="checkbox"/>	sabor a canela	<input type="checkbox"/>	color artificial	<input type="checkbox"/>	no la tomaria
<input type="checkbox"/>	poco sabor	<input type="checkbox"/>	sabor a pina	<input type="checkbox"/>	para todo momento	<input type="checkbox"/>	me disgusta
<input type="checkbox"/>	sabor fuerte	<input type="checkbox"/>	sabor a maracuya	<input type="checkbox"/>	color agradable	<input type="checkbox"/>	me gusta
<input type="checkbox"/>	acido	<input type="checkbox"/>	sin sabor	<input type="checkbox"/>	color desagradable	<input type="checkbox"/>	muy solida

		maracuya			
acido		sin sabor		color desagradable	muy solida

COMENTARIOS: _____

GRACIAS POR SU COLABORACION.