

**PROPUESTA DE DESARROLLO DE UN NUTRACÉUTICO DERIVADO DEL  
HIDROLATO COMO COPRODUCTO DE LA HIDRODESTILACIÓN DE LA *Rosa  
centifolia L.* (ROSACEAE)**

**LAURA DANIELA CONTRERAS LÓPEZ**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA  
FACULTAD DE INGENIERÍAS  
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BOGOTÁ, D.C  
2019**

**PROPUESTA DE DESARROLLO DE UN NUTRACÉUTICO DERIVADO DEL  
HIDROLATO COMO COPRODUCTO DE LA HIDRODESTILACIÓN DE LA *Rosa  
centifolia L* (ROSACEAE)**

**LAURA DANIELA CONTRERAS LÓPEZ**

**Proyecto integral de grado para optar al título de  
INGENIERO QUÍMICO**

**Directora  
BARBARA MORENO MURILLO  
Química.**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA  
FACULTAD DE INGENIERÍAS  
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BOGOTÁ, D.C  
2019**

Nota de aceptación.

---

---

---

---

---

---

---

Alexander Jiménez.

---

Angie Ortega.

Bogotá, D.C, Abril de 2019.

## **DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD**

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro.

Dr. Jaime Posada Díaz

Vicerrector de Desarrollo y Recursos Humanos.

Dr. Luis Jaime Posada García Peña

Vicerrectora Académica y de Posgrados.

Ing. Ana Josefa Herrera Vargas

Decano Facultad de Ingeniería.

Dr. Julio Cesar Fuentes Arismendi

Director Programa de Ingeniería Química.

Ing. Leonardo de Jesús Herrera Gutiérrez

Las directivas de la Universidad de América, Los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

A mis padres, Hermino Contreras y Olga López, quienes con su apoyo, consejo y aún más importante ejemplo han logrado moldear la mujer que soy hoy en día. Son mi mayor motivación y modelo a seguir. Sólo tengo palabras de agradecimiento para ustedes, quienes siempre han deseado el crecimiento no sólo intelectual de sus hijas sino también personal y han trabajado por ello. He aquí uno de los tantos resultados y metas cumplidas que pienso en mi vida dedicarles porque sé que padres responsables como ustedes hoy en día son cada vez más escasos. ¡Los amo!

A mis hermanas Natalia y Lucia con quienes he compartido los mejores momentos de vida, y con quienes confirmo a diario el valor de la amistad, la generosidad y el apoyo. Ustedes han sido una motivación importante en este proceso, espero compartir y enfrentar junto a ustedes los momentos felices, pero también los difíciles que nos ponga la vida.

A mis amigos, compañeros y conocidos que han pasado por mi vida desde que inicie este proceso, quizá sin darse cuenta todos me han enseñado algo, bueno o malo, que de antemano agradezco porque sin importar su naturaleza, me han hecho una persona más madura, crítica y segura.

A la vida, a Dios, a mis profesores y a la Universidad ¡Gracias!

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer a la directora de este proyecto, la profesora Bárbara Moreno quien en su vocación de enseñanza me guio con su conocimiento a lo largo del desarrollo de este proyecto. Me abrió las puertas de su grupo de investigación de Productos Naturales Vegetales Bioactivos y Química Ecológica de la Universidad Nacional de Colombia, donde no sólo aprendí conceptos nuevos relacionados con la química y apliqué los vistos, sino además reconocí la importancia de la guía, la vocación y la responsabilidad en el desarrollo de cualquier labor.

Al artista y arquitecto Rafael Hernández, fundador de la empresa de biotecnología Telmo Rem donde se produce el hidrolato de rosas, quien con su generosidad y apoyo fue pieza clave del desarrollo de este proyecto.

A la ingeniera y asesora Elizabeth Torres quien con sus recomendaciones dio estructura al presente proyecto. Gracias por su dedicación y apoyo emocional en los momentos de confusión presentados durante este tiempo.

A la Universidad Nacional de Colombia donde se desarrollaron los laboratorios y las investigaciones involucradas en el siguiente texto.

Y finalmente, pero no menos importante, a la Fundación Universidad de América donde en los últimos 6 años de vida desarrollé mis estudios de Ingeniería química creciendo intelectual y lo más importante personalmente.

## CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN.....	24
OBJETIVOS .....	25
1. MARCO TEÓRICO .....	26
1.1 <i>Rosa centifolia</i> L. ....	26
1.2 FLAVONOIDES .....	27
1.2.1 Agliconas. ....	28
1.2.2 Glicósidos de flavonoides. ....	28
1.3 CARACTERIZACIÓN DE FLAVONOIDES.....	30
1.3.1 Análisis cualitativo de flavonoides. ....	30
1.3.2 Análisis cuantitativo de Flavonoides. ....	35
1.4 NUTRACÉUTICOS.....	35
1.4.1 Definición. ....	35
1.5 FORMULACIÓN DE NUTRACÉUTICOS.....	36
1.5.1 Normativa INVIMA para suplementos dietarios (Nutracéuticos). ....	36
1.5.2 Aditivos. ....	37
1.5.3 Análisis organoléptico. ....	38
2. METODOLOGÍA.....	39
2.1 PRODUCCIÓN DEL HIDROLATO A PARTIR DE FLORES <i>R. centifolia</i> EN LA FINCA LAURASIA .....	40
2.2 CARACTERIZACIÓN INICIAL DEL HIDROLATO .....	41
2.2.1 Sólidos totales, disueltos y en suspensión. ....	42
2.2.2 Análisis inicial de componentes por Espectroscopia Infrarroja. ....	43
2.2.3 Análisis microbiológico del hidrolato. ....	46
2.2.4 Análisis Organoléptico del Hidrolato. ....	46
2.3 ANÁLISIS CUALITATIVO DE FLAVONOIDES .....	47
2.3.1 Prueba Shinoda. ....	47
2.3.2 Prueba de cloruro férrico.....	47
2.3.3 Cromatografía en Capa Delgada (CCD). ....	47
2.3.4 Extracción Secuencial de Flavonoides.....	48
2.4 ANÁLISIS CUANTITATIVO DE FLAVONOIDES.....	51
2.4.1 Determinación de Fenoles totales por U.V.: Método de Folin-Ciocalteu.....	51
3. RESULTADOS .....	54
3.1 CARACTERIZACIÓN INICIAL DEL HIDROLATO.....	54
3.1.1 Sólidos totales, disueltos y en suspensión presentes en el hidrolato. ....	54
3.1.2 Análisis preliminar por espectroscopia FT-IR.....	56
3.1.3 Análisis microbiológico del Hidrolato.....	59
3.1.4 Propiedades organolépticas del hidrolato. ....	59

3. 2 ANÁLISIS CUALITATIVO DE FLAVONOIDES .....	61
3.2.1 Prueba Shinoda y FeCl <sub>3</sub> .....	61
3.2.2 Extracción secuencial de Flavonoides. ....	62
3. 3 ANÁLISIS CUANTITATIVO DE FLAVONOIDES.....	67
3.3.1 Fenoles totales por espectrofotometría U.V.: Método de Folin-Ciocalteu. ..	67
4. FORMULACIÓN DEL NUTRACÉUTICO .....	71
4.1. DEFINICIÓN DEL PRODUCTO- INGREDIENTES BIOACTIVOS.....	71
4.2 SELECCIÓN ADITIVOS Y DILUYENTE PARA EL HIDROLATO.....	72
4.2.1 Conservante-antioxidante. ....	73
4.2.2 Diluyente.....	75
4.2.3 Edulcorante.....	76
4.3 METODOLOGÍA DE LA FORMULACIÓN.....	79
4.3.1 Evaluación estabilidad en tiempo Real.....	79
4.3.2 Evaluación dilución Según Fenoles Totales.....	81
4.3.3 Evaluación fisicoquímica y organoléptica del Extracto Acuoso de Estevia.....	85
4.3.4 Bebida nutracéutica Final.....	86
4.4 RESULTADOS FORMULACIÓN DE LA BEBIDA NUTRACÉUTICA.....	86
4.4.1 Resultados para la estabilidad del citrato de calcio en tiempo real.....	87
4.4.2 Evaluación dilución del concentrado de Hidrolato Según Fenoles Totales y Análisis organoléptico.....	94
4.4.3 Evaluación extracto acuoso de estevia como edulcorante. ....	96
4.4.4 Formulación final de la bebida nutracéutica-funcional.....	98
4.5 ETIQUETADO Y ENVASADO. ....	101
5 DISEÑO DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN. ....	108
5.1 OBTENCIÓN HIDROLATO DE ROSAS.....	108
5.2 DISEÑO BFD Y PFD PARA LA PRODUCCIÓN DE LA BEBIDA NUTRACÉUTICA.....	111
6. ANÁLISIS ECONÓMICO .....	118
6.1 COSTOS VARIABLES.....	119
6.1.1 Materias primas. ....	119
6.1.2 Costo energético.....	120
6.1.3 Costo de mano de obra. ....	121
6.2 COSTOS FIJOS: INVERSIÓN. ....	122
7. CONCLUSIONES.....	126
8. RECOMENDACIONES.....	128
BIBLIOGRAFÍA.....	144
ANEXOS. ....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>

## LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Escala de Evaluación sensorial del hidrolato.	46
Tabla 2. Resultados de los Sólidos Totales presentes en el hidrolato (g/L).	54
Tabla 3. Resultados Sólidos Disueltos presentes en el Hidrolato mg/L.	55
Tabla 4. Descripción señales IR obtenidas.	57
Tabla 5. Análisis microbiológico del Hidrolato de Rosas.	59
Tabla 6. Resultados numéricos de la evaluación organoléptica del hidrolato de rosas	60
Tabla 7. Valor de Rf para cada banda hallada en su correspondiente extracto.	66
Tabla 8. Valores de concentración para la construcción de la curva de calibración.	68
Tabla 9. CFT para Concentrado de Hidrolato de Rosas.	69
Tabla 10. Características Importantes de las fuentes comunes de calcio usadas en la industria de Alimentos.	73
Tabla 11. Matriz de decisión para el aditivo antioxidante-conservante.	74
Tabla 12. Propiedades de algunos edulcorantes naturales.	76
Tabla 13. Matriz de decisión para el aditivo edulcorante.	77
Tabla 14. Bebidas comerciales Fortificadas con Calcio.	80
Tabla 15. Cantidad de citrato de calcio en mg añadido a 100 ml de hidrolato.	80
Tabla 16. Diluciones del hidrolato evaluadas.	84
Tabla 17. Caracterización fisicoquímica del extracto acuoso de Estevia.	85
Tabla 18. Resultados para la caracterización del EAE.	97
Tabla 19. Formulación final de la bebida nutracéutica tipo té.	98
Tabla 20. propiedades fisicoquímicas de la bebida final en 1 mes de evaluación.	99
Tabla 21. Requisitos legales microbiológicos para bebidas fabricadas a partir de frutas.	100
Tabla 22. Análisis microbiológico de la bebida final para un mes de almacenamiento realizado por AQUALITY LAB S.A.S.	101
Tabla 23. Balance de masa para la producción de bebidas nutracéuticas por lote.	114
Tabla 24. Balance de masa global para el PFD.	117
Tabla 25. Costos mensuales por materia prima.	119
Tabla 26. Costos asociados del proceso al consumo de agua.	119
Tabla 27. Costo unitario de la bebida.	120

Tabla 28. Costo de algunas bebidas funcionales en Colombia.	120
Tabla 29. Consumo energético al mes.	121
Tabla 30. Costo por mano de obra mensual	121
Tabla 31. Margen operacional de producción.	122
Tabla 32. Costos de inversión.	122
Tabla 33. Flujo general de fondos para el proyecto.	123
Tabla 34. Flujo de caja libre para seis meses.	124
Tabla 35. Resumen financiero del proyecto.	125

## LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Clasificación taxonómica de la R. centifolia	26
Figura 2. Edulcorantes usados en la industria de origen natural	37
Figura 3. Fases para el desarrollo del proyecto.	39
Figura 4. Actividades correspondientes a la Fase I.	40
Figura 5. Diagrama obtención hidrolato de rosas.	41
Figura 6. Diagrama de Flujo para preparación de muestras para IR.	45
Figura 7. Procedimiento efectuado para la extracción secuencial de flavonoides por disolventes.	50
Figura 8. Preparación del reactivo Folin-Ciocalteu.	52
Figura 9. Metodología para la preparación de las muestras.	53
Figura 10. Resultados test de Shinoda y $\text{FeCl}_3$ .	62
Figura 11. Preparación extracto acuoso	78
Figura 12. Metodología para el desarrollo de las pruebas.	79
Figura 13. Estimado diario de consumo de flavonoides en la dieta para diferentes países expresados como quercetina.	81
Figura 14. Contenido de Flavonoides Flavonoles en bebidas comerciales	83
Figura 15. Estabilidad muestra Citrato de Calcio 0.05 mg /mL.	88
Figura 16. Estabilidad muestra citrato de Calcio 0.25 mg/mL.	89
Figura 17. Estabilidad muestra citrato de Calcio 0.5 mg/mL.	90
Figura 18. Estabilidad muestra citrato de Calcio 1 mg/mL.	91
Figura 19. Estabilidad muestra citrato de Calcio 1.5 mg/mL.	92
Figura 20. Comparación entre los materiales usados en la fabricación de envase.	102
Figura 21. Tipos de vidrios.	103
Figura 22. BFD proceso de producción actual del hidrolato concentrado.	111
Figura 23. BFD del proceso de producción de bebida nutracéutica actual.	112
Figura 24. Diagrama PFD para la producción de la bebida nutracéutica tipo té	113

## LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1.Sistemas de elución evaluados.	48
Cuadro 2.Abreviación extractos obtenidos	51
Cuadro 3.Condiciones de Estudio para la estabilidad del Citrato de Calcio	87
Cuadro 4. Perfil organoléptico del hidrolato concentrado.	94
Cuadro 5. Resultados CTF y Organoléptico de las diluciones propuestas.	95
Cuadro 6.Equipos usados en la producción de la bebida nutracéutica.	115
Cuadro 7.Información de limitante para los costos de producción.	118

## LISTA DE ILUSTRACIONES

	pág.
Ilustración 1.Subclases comunes de Flavonoides.	27
Ilustración 2. Estructura Básica de los Flavonoides.	28
Ilustración 3.Estructura flavonoides O-glicosilados.	29
Ilustración 4. Estructura flavonoides C-glicosilados.	29
Ilustración 5.Reacción Test de Shinoda.	30
Ilustración 6. Extracción líquido-líquido con disolventes.	31
Ilustración 7. Cromatografía en placa delgada CCD.	34
Ilustración 8.Espectro electromagnético.	34
Ilustración 9. Montaje filtración Buchner.	43
Ilustración 10. Extracción sólido-líquido.	44
Ilustración 11. Aspecto físico del Hidrolato	55
Ilustración 12.Extractos Obtenidos Extracción por solventes.	63
Ilustración 13. CCD para extractos obtenidos para solventes de diferente polaridad.	64
Ilustración 14.Numeración compuestos hallados en la CCD para los Extractos.	65
Ilustración 15. Metodología de selección ponderada-matriz decisión.	72
Ilustración 16.Diluciones propuestas para el hidrolato de Rosas	84
Ilustración 17. Escala JAR.	85
Ilustración 18. Envase propuesto para la bebida nutracéutica.	104
Ilustración 19. Etiqueta de la bebida nutracéutica VITAROSA.	106
Ilustración 20. Sistema producción agua de rosas/Hidrolato.	109
Ilustración 21.Apariencia de los Fondos del tanque de destilado.	110

## LISTA DE ECUACIONES

	pág.
Ecuación 1. Coeficiente de reparto entre el disolvente orgánico elegido y el hidrolato	31
Ecuación 2. Sólidos Totales mg/L	42
Ecuación 3. Sólidos Disueltos mg/L	42
Ecuación 4. Sólidos suspendidos mg/L	42
Ecuación 5. R <sub>f</sub> (Distancia recorrida por el soluto X en relación con el diluyente desde el origen de la placa Y.)	64
Ecuación 6. Muestra de cálculos para la determinación de CFT base quercetina.	69
Ecuación 7. Depreciación mensual en línea recta.	123
Ecuación 8. Valor Presente Neto.	125
Ecuación 9. Tasa interna de retorno o rentabilidad.	125

## LISTA DE GRÁFICAS

	pág.
Gráfica. 1. Sólidos Disueltos presentes en bebidas comerciales.	56
Gráfica. 2. Espectro Infrarrojo Obtenido para hidrolato Filtrado.	57
Gráfica. 3. Espectro Infrarrojo para quercetina pura.	58
Gráfica. 4. Análisis perfil de sabor para el Hidrolato	60
Gráfica. 5. Análisis perfil de olor para el Hidrolato.	61
Gráfica. 6. Espectro de absorción para la sustancia de referencia quercetina.	68
Gráfica. 7. Curva de Calibración mg EQ/mL.	69
Gráfica 8. Comparación CTF para las muestras durante el tiempo de evaluación de Estabilidad del Citrato de Calcio.	93
Gráfica. 9. Comparación CTF de bebidas comerciales y Dilución 1:3.	96
Gráfica. 10. Resultados de la evaluación de intensidad de dulce escala JAR	97

## LISTA DE ANEXOS

pág.

Anexo A. Operaciones matemáticas para la determinación de ST, SD Y SS presentes en el hidrolato	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Anexo B. Espectro IR para la extracción con etanol repetición 2.	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Anexo C. Certificado de análisis microbiológico para el hidrolato concentrado	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Anexo D. Formato de calificación para definir el perfil organoléptico del hidrolato concentrado.	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Anexo E. Procedimiento para la determinación del RF para TLC	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Anexo F. Operaciones involucradas en la construcción de la curva de calibración.	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Anexo G. Certificado de ensayo fisicoquímico para el extracto acuoso de estevia.	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Anexo H. Formato de evaluación escala jar para definir el porcentaje de endulzante a usar en la bebida final.	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Anexo I. Análisis fisicoquímico de la bebida tipo té finalizada para un periodo de 1 mes.	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Anexo J. Análisis microbiológico de la bebida tipo té finalizada para un periodo de 1 mes.	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Anexo K. Especificaciones técnicas de la maquinaria.	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>

## ABREVIATURAS

- CCD:** Cromatografía en placa delgada.
- PFD:** Diagrama de flujo de procesos.
- BDF:** Diagrama de bloques de procesos.
- CCa:** Citrato de calcio.
- ST:** Sólidos totales.
- SD:** Sólidos disueltos.
- SS:** Sólidos en suspensión.
- FT-IR:** Infrarrojo por transformada de Fourier.
- AcOEt:** Acetato de etilo.
- Rf:** Factor de retención.
- EtOH:** Etanol.
- QDA:** Análisis cualitativo descriptivo.
- CFT:** Contenido de Fenoles Totales.
- FAO:** Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación.
- EQ:** Equivalente quercetina.
- EAE:** Extracto acuoso de estevia.
- JAR:** Escala de evaluación "Just About Right".
- AR:** Agua de rosas.
- HC:** Hidrolato concentrado.

## GLOSARIO

**ADITIVO:** sustancia que se agrega en la formulación de un producto para modificar sus propiedades físicas, químicas y biológicas.

**AGENTE QUELANTE:** aditivo secuestrante que atrapa iones metálicos formando complejos moleculares. Comúnmente se incorpora a la formulación con el fin de evitar la degradación pronta del ingrediente activo.

**AGLICONA:** compuesto sin azúcares, es resultado de reemplazar por un átomo de hidrógeno el grupo glicósidos de un glucósido.

**AGUA DESIONIZADA:** es aquella agua a la que se le han extraído cationes (sodio, calcio, hierro y cobre) y aniones (carbonato, fluoruro, cloruro) mediante un proceso de intercambio iónico o por diferentes sistemas de filtración.

**ANHIDRO:** referente a cuerpos que en su composición no poseen cantidad de agua.

**ANTIOXIDANTE:** molécula que impide la formación de óxidos; en el cuerpo retrasan y evitan la oxidación celular.

**APOLAR:** moléculas que se producen por la unión entre átomos que poseen igual electronegatividad, no son solubles en agua.

**COEFICIENTE DE REPARTO:** cociente o razón entre las concentraciones de una sustancia en una mezcla de dos fases inmiscibles en equilibrio; este coeficiente mide la solubilidad diferencial de una sustancia.

**CROMATOGRAFÍA EN PLACA CCD:** técnica analítica con la que se realiza el análisis de una mezcla de componentes empleándose para la selección de un eluente.

**CONSERVANTE:** aditivo usado ampliamente en la industria que retarda la oxidación, la actividad biológica y el efecto de los factores ambientales sobre un producto; pueden ser de origen natural o sintético.

**CONTENIDO TOTAL DE FENOLES:** medida de las moléculas de carácter fenólico presentes en una mezcla obtenida a partir de la ejecución del método de Folin Ciocalteu.

**DESTILACIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR:** Es un tipo de destilación usado para la separación de moléculas altamente sensibles a la temperatura (compuestos volátiles) contenidas en una mezcla.

**ECOSMARTE:** compañía que opera a nivel mundial y ofrece soluciones de tratamiento de agua de pozo y agua de lluvia con control de bacterias residuales y agua filtrada fina

**EDULCORANTE:** sustancia de origen natural o artificial añadida a un alimento para otorgarle sabor dulce cambiando el perfil organoléptico del mismo.

**ENLACE CONJUGADO:** ocurre en compuestos orgánicos donde los átomos unidos mediante enlace covalente con enlaces simples y múltiples alternados (por ejemplo,  $C=C-C=C-C$ ) producen una región llamada de deslocalización electrónica. En flavonoles y flavonas es el enlace responsable de la coloración amarilla de las mismas.

**ELUYENTE:** disolvente que se usa para transportar los componentes de una mezcla a través de una fase estacionaria.

**ESTABILIDAD DEL PRODUCTO:** propiedad de mantener invariables las características organolépticas y funcionales de un producto con el paso del tiempo y de las condiciones ambientales

**EXTRACCIÓN:** transferencia selectiva de compuestos desde una mezcla sólida o líquida hacia una fase líquida (normalmente a un disolvente orgánico o agua).

**EXTRACTO ACUOSO DE ESTEVIA:** proporción de agua en la que se encuentran diluidos los compuestos presentes en la estevia, la mayoría glicósidos característicos de esta planta.

**FENOL:** el fenol en su forma pura es un sólido cristalino de color blanco-incoloro a temperatura ambiente, es conocido también como ácido fénico, puede sintetizarse mediante la oxidación parcial del benceno

**FLAVONOIDES:** antioxidantes polifenólicos que se encuentran naturalmente en las plantas, son compuestos orgánicos que no tienen una participación directa en el crecimiento o desarrollo de las plantas.

**GLUCOSILACIÓN:** es un proceso bioquímico en el que se adiciona un glúcido a otra molécula. Esta molécula se denomina aceptor. La molécula receptora puede ser de muchos tipos, por ejemplo, de naturaleza proteica o lipídica.

**GLUCÓSIDOS DE ESTEVIOL:** son los compuestos químicos responsables del sabor dulce de las hojas de la planta sudamericana *Stevia rebaudiana* y son unos de los principales ingredientes o precursores de muchos sustitutos del azúcar.

**GRADOS BRIX:** unidad de cantidad que sirven para determinar el cociente total de materia seca (generalmente azúcares) disuelta en un líquido. Los grados Brix se cuantifican con un refractómetro.

**GRUPO CARBONILO:** grupo funcional que consiste en un átomo de carbono con un doble enlace a un átomo de oxígeno.

**HIDROLATO DE ROSAS:** líquido de color oscuro y apariencia turbia que contiene los compuestos polares hidrosolubles de la rosa.

**INGREDIENTE ACTIVO:** sustancia o mezcla de varias con actividad biológica que tienen la capacidad de interactuar con nuestro organismo y sus distintos sistemas.

**MARMITA:** recipiente de metal cubierto con una tapa que queda totalmente ajustada. Se utiliza generalmente a nivel industrial para procesar alimentos nutritivos, mermeladas, jaleas, chocolate, dulces y confites, carnes, bocadillos, salsas, etc., Además sirven en la industria química farmacéutica.

**METABOLITO SECUNDARIO:** compuestos orgánicos que no tienen una participación directa en el crecimiento o desarrollo de las plantas y otros seres vivos.

**NOTA RESIDUAL:** sensación bucal desagradable que queda en la lengua o garganta por tiempo prolongado

**NUTRACÉUTICOS:** producto cuyo propósito es adicionar a la dieta normal nutrientes y otras sustancias con efecto fisiológico.

**ORGANOLÉPTICO:** referente a propiedades que se percibe con los sentidos

**PANEL DE CALIFICACIÓN:** grupo de personas que califican bajo criterios determinados muestras de bebidas o cualquier otro alimento a fin de optimizar o definir perfiles organolépticos.

**PLASTISOL:** material líquido compuesto por una mezcla de resina, plastificantes y otros aditivos; es usado como recubrimiento superficial debido a su resistencia a la abrasión, corrosión etc.

**POLAR:** moléculas que, sin estar compuestas de iones, presentan exceso de carga positiva en uno de los lados y de carga negativa en otro, la sustancia polar más ampliamente conocida es el agua

**QDA:** evaluación sensorial donde se determina cuantitativamente la intensidad de los descriptores.

**QUERCETINA:** flavonol que se encuentra presente generalmente como O - glucósidos en altas concentraciones tanto en frutas como en verduras.

**R. *centifolia*:** especie del género de las rosas (familia Rosaceae) nativa de Asia. Sus flores son redondas y globulares, de color rosa con tonalidad variable, de pétalos delgados y fuertemente perfumados.

**SOLUCIÓN MADRE:** dilución de concentración conocida que sirve para preparar otras sustancias o diluciones.

**TERPENOIDES:** clase de compuestos orgánicos derivados del isopreno (o 2-metilbuta-1,3-dieno), un hidrocarburo de 5 átomos de carbono

**VEHÍCULO DE FORMULACIÓN:** sustancias que se emplean en las formulaciones para diluir el complejo total hasta un volumen o peso determinado

## RESUMEN

Este proyecto tiene como finalidad el aprovechamiento del residuo de la destilación por arrastre de vapor de agua de rosas mediante el desarrollo y formulación de una bebida nutracéutica-funcional aprovechando el origen orgánico de la materia prima y la presencia de antioxidantes reportados en la literatura para la *R. centifolia*. Para lograrlo, se inicia con la caracterización cualitativa y cuantitativa del concentrado de hidrolato de rosas por medio de pruebas físicas y químicas en las que se identifica la existencia de moléculas polifenólicas tipo flavonoides, específicamente el contenido del flavonoide quercetina, altamente valorados por su actividad antioxidante, antiinflamatoria, antialérgica, antibiótica y contra el cáncer.

En consecuencia a los resultados anteriores se inició el desarrollo de una bebida nutracéutica perteneciente a la clasificación de las bebidas refrescantes, ligeras o en inglés denominada “clear beverages”. Seguidamente se realizó la elección y evaluación de aditivos después de una investigación selectiva en la que se eligió como antioxidante-conservante al citrato de calcio y se determinó que un valor medio aceptable está alrededor de 1mg/mL como conclusión de un estudio de estabilidad durante un periodo de 16 semanas. Como diluyente o vehículo de la formulación se seleccionó agua en la proporción 1:3 (hidrolato; agua). Se cuantifico el contenido de fenoles expresados como equivalentes de quercetina de 0,22 mg EQ/ mL, valor que supera el de otras bebidas comerciales; y finalmente se complementó la formulación con la adición de un edulcorante para el cual se seleccionó el almíbar de *Stevia rebaudiana* L. (Asteraceae) por medió de pruebas organolépticas escala JAR y se concluyó que el contenido de 2% (sobre el volumen total de hidrolato diluido) de un concentrado acuoso de estevia es la cantidad que más se ajusta dentro del gusto de la población evaluada. A partir de la formulación final establecida, se propuso el diseño de procesos para la producción de 747 botellas de 300 mL con base en el sistema de destilación por arrastre de vapor existente, en el cual por cada lote diario se produce un 50% de agua de rosas y un 10% de hidrolato.

Por último, se realizó una estimación de costos directos de producción de la bebida entre los que se incluye el valor de la materia prima, el consumo de luz, agua, gas, y la mano de obra.

**PALABRAS CLAVE:** *R. centifolia*, flavonoides, destilación por arrastre de vapor, nutracéutico, citrato de calcio, estevia, quercetina.

## INTRODUCCIÓN

La salud y la enfermedad son dos temas importantes para la humanidad desde tiempo inmemorable, y desde el comienzo de la civilización las plantas han sido la más importante fuente de medicina, alimento etc. A pesar del desarrollo de la medicina alopática en el siglo XX a nivel mundial, las plantas permanecen como el mayor insumo de principios activos para la elaboración de fármacos tanto en la medicina moderna como en los sistemas tradicionales.

Las plantas, en especial su estructura reproductiva, conocida como flor, han causado fascinación a los científicos quienes buscan conocer los componentes responsables de la impresión olfativa característica de cada especie fragante. “Los productos fragantes obtenidos de las flores en general y de los aceites esenciales en particular pertenecientes a la familia rosácea, encuentran aplicación en la industria de perfumes, cosméticos, alimentos y medicamentos”.<sup>1</sup> A escala mundial, según las características del clima y el suelo, de las familias de las rosas solo se cultivan comercialmente algunas especies como la rosa alba, rosa centifolia, rosa damascena, rosa gálica y rosa rugosa.

Telmo Rehm es un proyecto-empresa creado por el artista y arquitecto colombiano Rafael Hernández Moscoso en 1998 que ofrece entre algunos productos el agua de rosas (aceite esencial insoluble) y el respectivo hidrolato de rosas que contiene los componentes solubles en agua. Esta empresa inicio el cultivo y producción de *Rosa centifolia* L. (Rosaceae) bajo condiciones agrícolas sostenibles y sin aplicación de plaguicidas y fertilizantes químicos, en la finca Laurasia ubicada en Tibaná Boyacá, Colombia. Inicialmente el hidrolato fue considerado un residuo no útil, sin embargo el desarrollo de un producto bebible a partir de este permitirá no solo ofrecer sus propiedades terapéuticas, sino dar a conocer a la comunidad afectada por dolencias sus propiedades nutricionales en las cuales los antioxidantes son claves en la prevención y tratamiento. El aprovechamiento del residuo (ahora coproducto) derivado de la destilación de rosas será un ejemplo en el desarrollo de proyectos productivos rurales colombianos en los que se logró, en adición a la producción de materia prima sostenible y orgánica, su transformación en un producto con valor agregado.

---

<sup>1</sup> DOBREVA, A & BELCHEVA, A. Chemical composition of different genotypes oil-bearing roses. En: Bulgarian Journal of Agricultural Sciences.2013, no 6. p. 1213-1218. ISSN 1310-0351.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Desarrollar un producto nutracéutico a partir del hidrolato coproducto de la hidrodestilación de la *Rosa centifolia* L (Rosaceae) en la obtención de agua de rosas.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Caracterizar los flavonoides presentes en el extracto de té de rosa también conocido como hidrolato.
- Establecer las condiciones de producción para la formulación homogénea del nutracéutico con objeto comercial.
- Especificar las técnicas de proceso necesarias para la producción del nutracéutico homogenizado.
- Evaluar el costo de producción final del hidrolato acondicionado y dispuesto como nutracéutico.

## 1. MARCO TEÓRICO

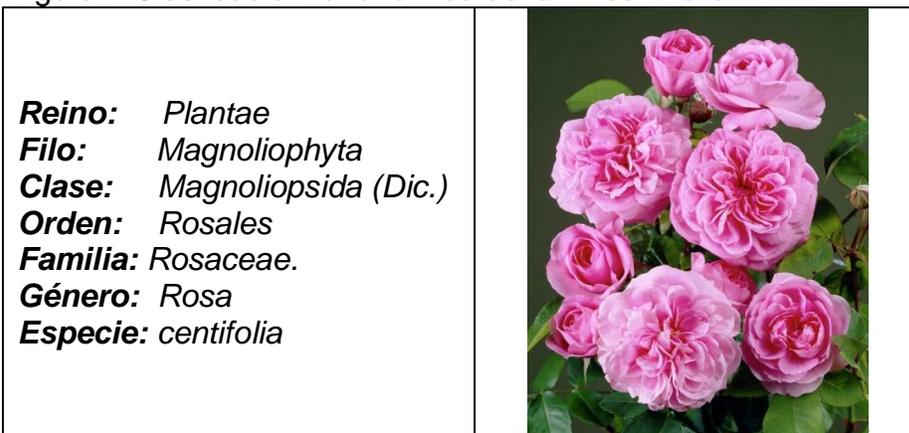
Este capítulo tiene por objetivo recopilar los conceptos básicos necesarios para la comprensión del desarrollo del proyecto. Se inicia con la descripción físico-química de la *Rosa centifolia* L. y posteriormente se explican los métodos químicos, físicos y organolépticos usados para la caracterización e identificación de los flavonoides en el extracto de rosas denominado hidrolato.

### 1.1 *Rosa centifolia* L.

Descrita por Linneo, conocida como “*rosa de mayo*”, es una especie del género de las rosas (familia Rosaceae) nativa de Asia; morfológicamente se trata de un arbusto que alcanza entre los 1,5-2 metros de altura con una larga caída de cañas y hojas pinnadas verde grisáceo con 5 a 7 folíolos. Sus flores son redondas y globulares, de color rosa con tonalidad variable, de pétalos delgados y fuertemente perfumados como se observa en la figura 1.

Para muestras cultivadas en Colombia se encontraron, por medio del perfil cromatográfico del aceite esencial, los siguientes componentes químicos mayoritarios: 2-feniletanol y terpenoles como geraniol, nerol, linalol y citranelol, cariofileno oxido de rosa, metileugenol (1,5%)<sup>2</sup> e hidrocarburos como nonadecano (C-19, 8,2%) y heneicosano (C-21 3,1%).

Figura 1. Clasificación taxonómica de la *R. centifolia*



**Fuente:** HERNANDEZ, Rafael & MORENO, Bárbara. Hacia una agricultura sostenible: La *Rosa centifolia* L., genotipo cultivado orgánico en Colombia y sus propiedades medicinales. En: Revista Química e Industria. Bogotá. Vol. XXIX, No. 1, septiembre 2017; p.15-23

<sup>2</sup> HERNANDEZ, Rafael & MORENO, Bárbara. Hacia una agricultura sostenible: La *Rosa centifolia* L., genotipo cultivado orgánico en Colombia y sus propiedades medicinales. En: Revista Química e Industria. Septiembre, 2017, Vol. XXIX, no. 1. p.15-23. ISSN 0370-287.

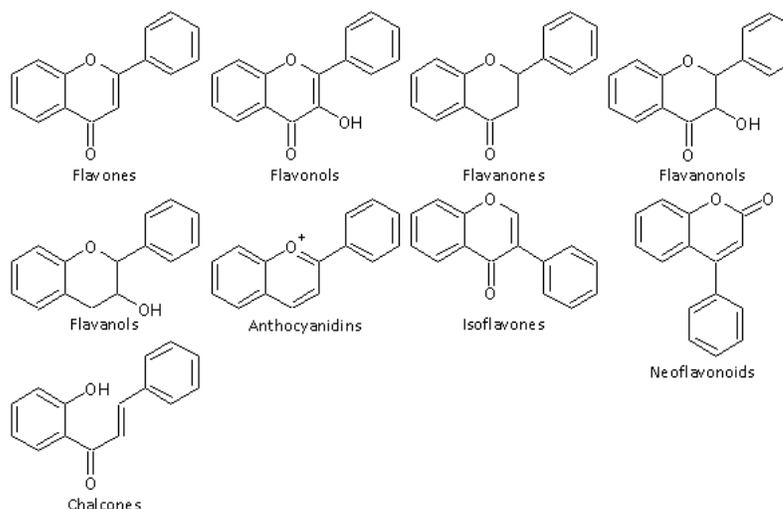
## 1.2 FLAVONOIDES

Los flavonoides, también conocidos como bioflavonoides, son antioxidantes polifenólicos que se encuentran naturalmente en las plantas. Son metabolitos secundarios y como explica Markham<sup>3</sup> en las especies pertenecientes al reino vegetal cerca del 2% del carbono fotosintetizado es convertido en flavonoides o compuestos derivados.

“Son estructuralmente similares a las hormonas esteroidales, particularmente los estrógenos, y se han estudiado ampliamente. Estos estudios han demostrado que exhiben muchas actividades biológicas, incluidas acciones antialérgicas, antivirales, antiinflamatorias y vasodilatadoras”.<sup>4</sup>

Se clasifican en al menos 10 grupos químicos. La ilustración 1 enumera las subclases comunes de flavonoides lo cual permite identificar la estructura básica de estos componentes polifenólicos (especialmente los anillos característicos A, B y C).

Ilustración 1. Subclases comunes de Flavonoides.



**Fuente:** PANDEY, S. KUMAR.. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *Hindawi*. Allahabad: India; 2013.p.16

Los flavonoides están presentes en las plantas donde sufren distintas reacciones entre las que destaca su conjunción con una molécula de azúcar, para formar los

<sup>3</sup> K.R MARKHAM .Techniques of flavonoid Identification. Nueva Zelanda: Academic Press, 1982. p.9.

<sup>4</sup> DING Shujing & DUDLEY. Bioanalysis of the flavonoid composition of herbal extracts and dietary supplements. New York: Nova Science Publishers Inc, 2009. p. 301-305.

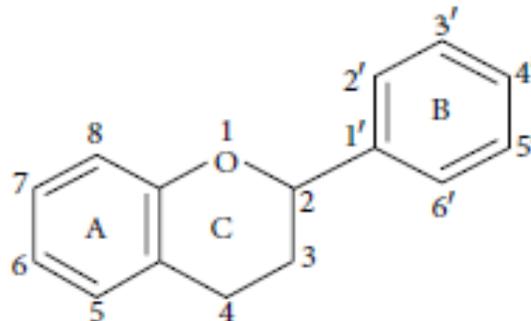
glicósidos.

A continuación, se realizará una descripción de la clasificación de los flavonoides de acuerdo con su solubilidad, teniendo en cuenta cómo se mencionó anteriormente que la extracción y selección del solvente orgánico depende de la polaridad del flavonoide.

**1.2.1 Agliconas.** Se trata de la estructura base del flavonoide, contienen quince átomos de carbono, en configuración C6 - C3 - C6, esto es dos anillos aromáticos unidos por tres unidades de carbono que pueden o no formar un tercer anillo. Por conveniencia para su descripción y clasificación estos anillos se nombran A, B y C como la ilustración 2 indica.

Los flavonoides a menudo se hidroxilan en las posiciones 3, 5, 7 para formar 2', 3', 4' y 5' hidroxiderivados de origen biosintético. La forma aglicona de los flavonoides presentan una menor polaridad que sus formas conjugadas, por ende, los disolventes menos polares (éter, benceno y cloroformo) serán útiles para su extracción.

Ilustración 2. Estructura Básica de los Flavonoides.



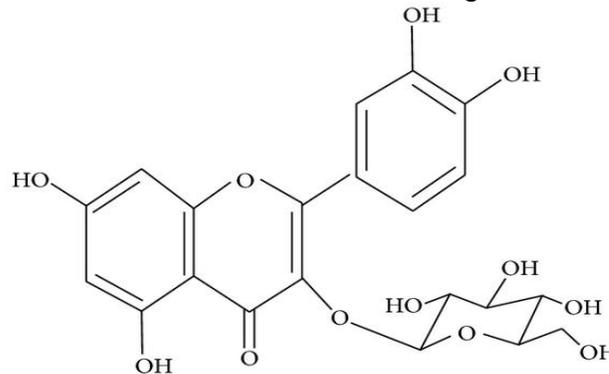
Fuente: *Ibíd.*, p. 2.

Respecto a su metabolismo en el cuerpo humano, las agliconas pueden ser absorbidas fácilmente por el intestino delgado, mientras que los flavonoides glicosilados deben ser convertidos a agliconas para su absorción.

**1.2.2 Glicósidos de flavonoides.** Derivan de las agliconas que como se dijo son la estructura fundamental del flavonoide y ocurre un proceso de glucosilación (adición de una molécula de azúcar). Cuando se forman los glicósidos, el enlace glicosídico normalmente se localiza en las posiciones 3, 4', 5' ó 7 y el carbohidrato puede ser L-ramnosa, D-glucosa, ramnosa, galactosa o arabinosa; se conocen dos tipos de enlaces el común tipo éter (O-glicósidos) y los C- glicósidos, a continuación explicados:

- **O-glicósidos.** Es la forma de glicosidos de flavonoides más abundante en la naturaleza, ocurre cuando uno o más de los grupos OH del flavonoide se enlaza con un azúcar por medio de un enlace hemiacetal como se muestra en la ilustración 3. El efecto de la glucosilación produce un flavonoide menos reactivo y más hidrosoluble lo que le permite a la planta almacenarlos en la vacuola donde se encuentran comúnmente. Por ende, disolventes muy polares (acetona, acetato de etilo, alcohol y agua) se utilizan para su extracción.

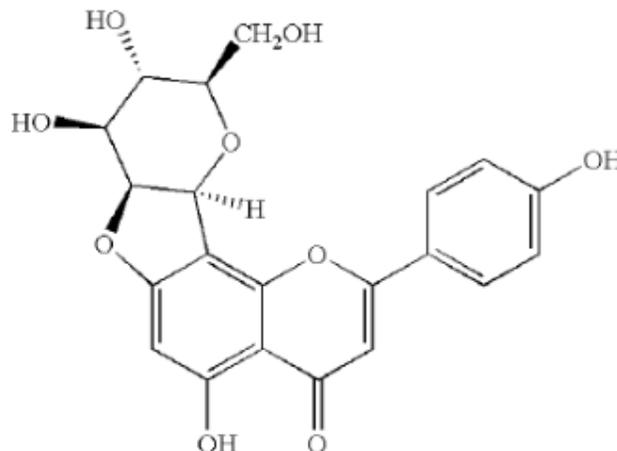
Ilustración 3. Estructura flavonoides O-glicosilados.



Fuente: Ibid., p. 5.

- **C-glicósidos.** Los azúcares pueden estar también presentes mediante uniones o enlaces C-C, en este caso el azúcar va directamente enlazado al anillo aromático central (A) por un enlace carbono-carbono ácido resistente visible en la ilustración 4. El rango de azúcares enlazados es mucho menor que los involucrados en los flavonoides O-glicosilados.

Ilustración 4. Estructura flavonoides C-glicosilados.



Fuente: Ibid., p. 6.

### 1.3 CARACTERIZACIÓN DE FLAVONOIDES

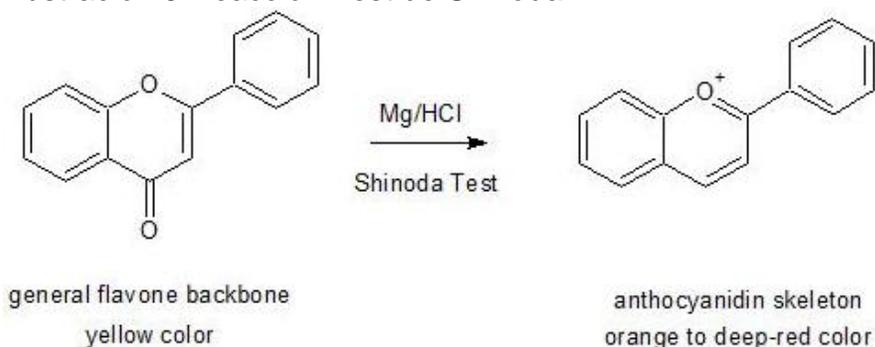
La ejecución de métodos basados en procesos unitarios es importante en la ingeniería química y aquí realizados a nivel laboratorio, tales como los métodos de separación y purificación como la cromatografía y la extracción líquido-líquido, permitieron un análisis y caracterización más específica de las biomoléculas flavonoides sugiriéndose que se trata del componente con mayor incidencia en este producto. Igualmente se utilizaron métodos de caracterización cualitativa y cuantitativa presentados a continuación.

**1.3.1 Análisis cualitativo de flavonoides.** Las pruebas experimentales de tipo cualitativo para la determinación de flavonoides como las Prueba de Shinoda y  $\text{FeCl}_3$  permiten ratificar la existencia de moléculas de carácter polifenólico en un extracto.

**1.3.1.1 Pruebas de  $\text{FeCl}_3$  y Test de Shinoda.** La prueba con  $\text{FeCl}_3$  se usa para la determinación de fenoles con base en la oxidación de estos a quinonas en presencia de cloruro férrico, donde el ion hierro Fe (III) y los pares libres electrónicos de los fenoles forman enlaces cristalinos que producen complejos organometálicos de coloraciones variables que van desde el azul violeta verdes y hasta el marrón.

La prueba de Shinoda, denominado también la prueba de la cianidina, permite reconocer la presencia de flavonoides. Esta prueba involucra la eliminación reductiva de un grupo carbonilo cuya conjugación se manifiesta al espectro visible como coloración amarilla, y se reduce a moléculas de antocianidinas estables, cuya conjugación resultante desplaza el color hacia la región roja del espectro visible. La reacción para esta prueba se muestra en la ilustración 5.

Ilustración 5. Reacción Test de Shinoda.



**Fuente:** MARTÍNEZ Alejandro. Iononas y Compuestos Relacionados. Antraquinonas. Medellín, Antioquia: Ed. Universidad De Antioquia, 2012.p.3.

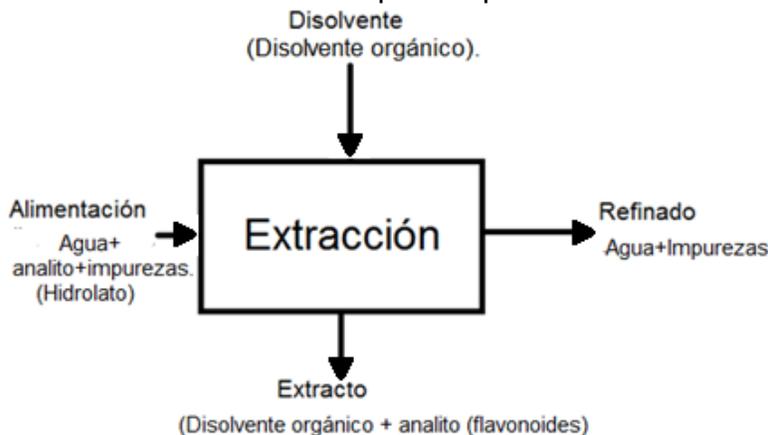
**1.3.1.2 Extracción de Flavonoides.** De acuerdo con la diferencia de polaridad existente entre diversas moléculas y los flavonoides, la extracción secuencial por solventes es la mejor estrategia para la caracterización de estos. Este método consiste en una extracción líquido-líquido, llevada a cabo entre dos disolventes de diferente polaridad, no miscibles entre sí (hidrolato filtrado y solvente orgánico). La mezcla se agita fuertemente en un embudo de decantación para aumentar así la superficie de contacto entre las moléculas y lograr una distribución más rápida del analito a extraer entre las dos fases. La transferencia del analito deseado (flavonoides) desde el alimento acuoso hacia la fase orgánica será cada vez mayor de acuerdo con el coeficiente de reparto R regido por la ecuación 1.

Ecuación 1. Coeficiente de reparto entre el disolvente orgánico elegido y el hidrolato

$$R = \frac{S_a}{S_b}$$

Debido a que después de la extracción la fase acuosa o alimento aun contiene cierta cantidad del analito deseado, se recomienda repetir dos o más veces la extracción con el mismo disolvente orgánico con volúmenes pequeños para hacer este proceso más eficiente. Según la Ilustración 6 en la extracción líquido-líquido “se denomina ALIMENTACIÓN a la solución que contiene el analito el cual se extrae sucesivamente hasta con seis nuevas porciones de disolvente de diferente polaridad”<sup>5</sup>. Se conoce como REFINADO al residuo tratado del que se extrajo el componente de interés y finalmente se denomina EXTRACTO al disolvente que arrastró, según su polaridad, una mezcla de distintos tipos de flavonoides.

Ilustración 6. Extracción líquido-líquido con disolventes.



Fuente: elaboración propia

<sup>5</sup> DOUGLAS, Skoog. et al. Fundamentos de Química Analítica Vol. 2 (4ª ED).2001.

➤ **Saturación con sal o “Salting out”.** Con el fin de aumentar la eficiencia de la extracción, se usa el método de “salting out” o la saturación de la fase acuosa con Na+Cl-. Este método, basado en la solubilidad de la sal en el agua por interacciones del electrolito con esta, consiste en que “las moléculas no electrolíticas (compuestos orgánicos aun en suspensión) reducen su solubilidad trasladándose a la fase orgánica debido al aumento de las interacciones hidrofóbicas en una solución con altas concentraciones de sal”<sup>6</sup>. Si bien se trata de un método típico usado en la precipitación de biomoléculas como proteínas, su uso no está limitado, por ejemplo en la presente experimentación se usó este método en la extracción secuencial de flavonoides, donde la adición de NaCl promovió la decantación y separación de fases del extracto y el refinado.

**1.3.1.3 Sistema Cromatográfico.** La cromatografía es un método de separación físico ampliamente usado en diversas áreas de la ciencia. Se denomina sistema cromatográfico al procedimiento compuesto de una fase estacionaria sólida o líquida, una fase móvil líquida o gaseosa y una muestra constituida por varios productos objeto de separación, la cual ocurre por medio de interacciones selectivas entre las partes del sistema, derivadas de las diferencias de polaridad existentes. Este método, con base en el principio de retención selectiva, permite tanto la separación y caracterización de los componentes de mezclas complejas, así como la determinación de las cantidades relativas de los mismos (integración bajo la curva).

La fase estacionaria puede ser hecha de sólidos adsorbentes, porosos, geles como el gel de sílice (SiO<sub>2</sub>) y la alúmina (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)<sup>7</sup>. Cuando la fase estacionaria presenta interacciones de carácter polar con la muestra se habla de una cromatografía en fase normal y por su parte cuando la fase estacionaria tiene naturaleza apolar se habla de cromatografía inversa o en fase reversa. Algunos sistemas requieren un soporte donde la función de este es la de sostener y retener la fase estacionaria. Normalmente se habla de un sólido rígido como vidrio, plástico o aluminio, en el caso de la cromatografía en Columna (CC) la columna de vidrio es el soporte. La muestra hace referencia a la mezcla compleja a analizar que contiene las sustancias de interés (analitos). La muestra es capaz de ejercer un desplazamiento que involucra interacciones solvente-analito y muestra-fase

---

<sup>6</sup> ANAS ADIB Alshishani.*et al.* Salting-out assisted liquid-liquid extraction method coupled to gas chromatography for the simultaneous determination of thujones and pulegone in beverages. En: International journal of food properties. Junio, 2017. Vol.21. ISSN 1094-2912.

<sup>7</sup> BONILLA, Andrés. Caracterización de los pigmentos antocianos en los primordios florales de *Miconia biappendiculata* y *Clusia multiflora* de un bosque andino. Trabajo de grado para obtener el título de biólogo. Universidad Pontificia Javeriana. Facultad de ciencias. Bogotá. 2002. p. 67

estacionaria, donde la fuerza de cada interacción depende de la polaridad de la muestra y de estas depende la eficiencia del sistema. La elección de la fase móvil es crítica pues de esta depende la calidad de la separación, su elección es única y depende de la naturaleza (polar-apolar) de los componentes de interés contenidos en la mezcla compleja a analizar.

Cuando el objeto de la cromatografía es separar y obtener cantidades “puras” de cierto componente de la muestra, se habla de métodos cromatográficos preparativos entre los que se incluye la cromatografía en columna (CC). Por su parte si la finalidad es analizar la existencia de una o varias moléculas dentro de una mezcla compleja en la cual la cantidad de muestra a usar debe ser pequeña, se habla entonces de métodos analíticos entre los que se incluye la cromatografía en placa delgada (TLC), HPLC analítico, cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) entre otras.

➤ **Cromatografía en Capa Delgada CCD.** Denominada también TLC (“Thin Layer Chromatography”) es el método cromatográfico analítico más usado según describe ANDERSEN *et al*<sup>8</sup> debido a sus tiempos cortos de separación, la posibilidad de correr varias muestras al mismo tiempo, su sensibilidad a los reactivos de detección (revelado) y su menor precio en comparación con otros métodos cromatográficos.

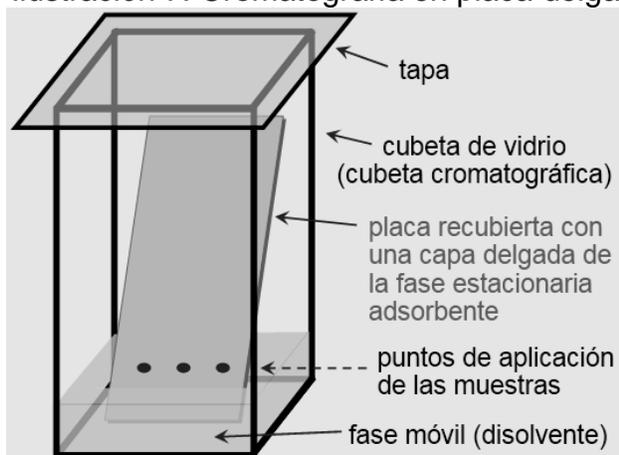
El sistema cromatográfico como se observa en la ilustración 7, consiste en una placa con fase estacionaria polar (gel de sílice, alúmina o celulosa) adherida a una superficie sólida por lo general vidrio o aluminio. Para fase normal, la mezcla a examinar se disolverá en un disolvente orgánico de baja polaridad que tenga un punto de ebullición lo suficientemente bajo para que se evapore después de la aplicación. La aplicación o siembra de la muestra se realiza con micropipetas de 2  $\mu$  a 1-2 cm del borde inferior. El sistema eluyente (fase móvil) se añade a una cámara de vidrio donde una vez dispuesta la placa el disolvente se mueve por acción capilar sobre está arrastrando consigo la muestra aplicada.

Para observar los resultados se necesita de un reactivo como agente de detección o revelador. Para este efecto se usan placas con revelador fluorescente (GF<sub>254</sub>), cámara de yodo y solución de vainillina-ácido sulfúrico 10% en etanol el revelado con calentamiento lento hasta más o menos a 120°C.

---

<sup>8</sup> ANDERSEN Oyvind & MARKHAM Kenneth. Separation and quantification of flavonoides. En: Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications. Nueva Zelanda: Taylor and Francis, 2006. p.10.

Ilustración 7. Cromatografía en placa delgada CCD.

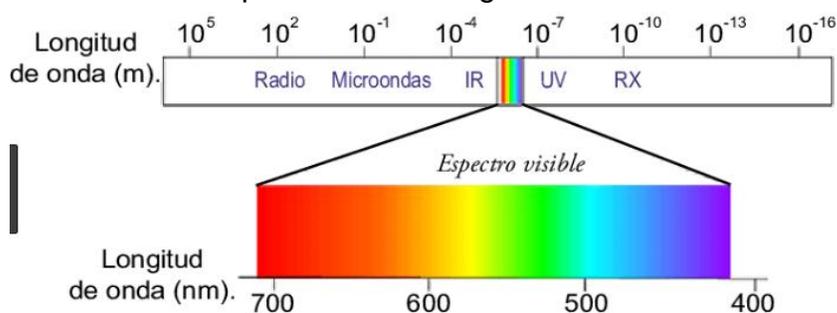


**Fuente:** L&Q. Cromatografía en Capa Delgada. [En línea]. 2015. Disponible en: <https://lidiakonlaquimica.wordpress.com/tag/cromatografia-en-capa-fina/>

**1.3.1.4 Espectroscopia Infrarroja (IR).** La Espectroscopia infrarroja es una técnica vibracional que permite la identificación de grupos funcionales de moléculas de estructura desconocida y se usa en la industria como una práctica para realizar mediciones y en control de calidad. Esta técnica basa su funcionamiento en el hecho de que las moléculas tienen frecuencias a las cuales rotan y vibran. Las frecuencias resonantes o vibracionales son determinados por la forma de las superficies de energía potencial molecular, las masas de los átomos y por el acoplamiento vibrónico asociado al número de onda o inverso de la frecuencia  $\nu$  y se expresa en  $\text{cm}^{-1}$ . Ilustración 8.

Este método se utilizó en el análisis inicial del hidrolato el cual permitió una identificación a priori de las posibles clases de compuestos presentes por medio de la caracterización de los grupos funcionales

Ilustración 8. Espectro electromagnético.



**Fuente:** AGODA Makjanić & IVICA Orlić. Espectro electromagnético. [en línea]. Disponible en internet: [https://www.researchgate.net/figure/Figura-158-Espectro-electromagnetico\\_fig55\\_27209010](https://www.researchgate.net/figure/Figura-158-Espectro-electromagnetico_fig55_27209010)

**1.3.2 Análisis cuantitativo de Flavonoides.** La caracterización cuantitativa se basa en la espectrofotometría UV, la técnica más usada para el cálculo de concentraciones de fenoles, la cual correlaciona la absorción de luz con la concentración de los compuestos de interés.

**1.3.2.1 Cuantificación de compuestos fenólicos Totales.** Para esta labor se usa entre otros el método Folin-Ciocalteu como medida de la concentración de los compuestos fenólicos existentes en el hidrolato. “Este método se basa en la reacción de reducción de los grupos oxigenados del reactivo de Folin-Ciocalteu con los compuestos fenólicos a pH básico, que dan lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm <sup>9</sup>. La curva patrón se preparó a partir del flavonol quercetina (flavonoide más abundante en vegetales) y los resultados se expresan en mg de quercetina/mL hidrolato.

## 1.4 NUTRACÉUTICOS

Si bien el término nutraceutico no es reconocido por la legislación colombiana, el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) define al suplemento dietario bajo las mismas características del primero enunciado. Según la Sociedad Española de Nutraceutica Médica <sup>10</sup> los nutraceuticos destacan dentro del grupo de Suplemento dietario siempre y cuando sean productos de origen natural obtenidos por medios y/o procesos no desnaturalizantes, definición que aplica válidamente para el hidrolato de *R. centifolia*.

**1.4.1 Definición.** Según el Decreto Número 3249 del 2006 se define a un nutraceutico, o suplemento dietario como “aquel producto cuyo propósito es adicionar la dieta normal y que es fuente concentrada de nutrientes y otras sustancias con efecto fisiológico o nutricional que puede contener vitaminas, minerales, proteínas, aminoácidos, otros nutrientes y derivados de nutrientes, plantas, concentrados y extractos de plantas solas o en combinación”<sup>11</sup>

El sector de nutraceuticos y suplementos dietarios se trata de uno de los mercados sujetos a la industria de alimentos con más perspectivas de crecimiento

---

<sup>9</sup> GARCÍA Eva & FERNÁNDEZ Isabel. Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Departamento de Tecnología de Alimentos. ETSIAMN. Universitat Politècnica de València.2009.

<sup>10</sup> SOCIEDAD ESPAÑOLA DE NUTRACÉUTICA MÉDICA. Nutraceuticos, Alimentos Funcionales, Complementos Alimenticios o suplementos dietéticos. [en línea]. [Consultado: 27 de octubre de 2018]. Disponible en internet: <http://www.nutraceuticamedica.org/definicion.htm>

<sup>11</sup> Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, INVIMA. Normatividad Institucional. Documentos INVIMA. Leyes. [En línea]. [Consultado en: 02 de julio de 2018]. Disponible en internet: <https://www.invima.gov.co/leyes-en-normatividad-institucional.html>.

a nivel mundial, así según como expone la consultora Mordor Intelligence & Markets “en el año 2018, el sector de nutracéuticos superó la cifra de 200,000 millones de dólares y se tiene proyectado que para el año 2022 esta cifra alcance 300,000 millones de dólares”.<sup>12</sup>

Para el caso concreto de Colombia la producción, comercialización o importación de este tipo de productos es regulada por el INVIMA quién sustenta la expedición del Registro Sanitario en el Decreto 3249 del 2006, del Ministerio De La Protección Social.

## **1.5 FORMULACIÓN DE NUTRACÉUTICOS**

A fin de obtener un producto nutracéutico consumible a partir del extracto obtenido en los fondos de la destilación de rosas, es necesario establecer parámetros que permitirán legalmente definir a la bebida a diseñar como un alimento funcional-nutracéutico.

**1.5.1 Normativa INVIMA para suplementos dietarios (Nutracéuticos).** Según el Decreto 3249 del 2006, los requisitos para la obtención del Registro Sanitario de los suplementos dietarios tienen como condición la presentación de una documentación técnica, que especifica:

- Presentación de etiquetas, que incluya las leyendas obligatorias, con los bocetos de rotulado, precisando ingredientes.
- A los suplementos dietarios no se les otorgará una vida útil superior a dos (2) años, salvo que se aleguen los estudios de estabilidad necesarios que sustenten una vida útil superior a la aquí establecida. Se aprobará una vida útil superior a dos (2) años sustentada en los estudios de envejecimiento natural la cual no podrá exceder, en ningún caso, de tres (3) años.<sup>13</sup>

---

<sup>12</sup> Mercado de nutracéuticos superó la cifra de 200.000 millones de Dólares. En: Food News [en línea]. [Consultado en: 02 de julio de 2018]. Disponible en internet: <http://www.foodnewslatam.com/paises/4964-europa/8105-nutraceuticals-europe-summit-y-expo-2019.html>

<sup>13</sup> COLOMBIA. MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL. Decreto Número 3249 de 2006: Por el cual se reglamenta la fabricación, comercialización, envase, rotulado o etiquetado, régimen de registro sanitario, de control de calidad, de vigilancia sanitaria y control sanitario de los suplementos dietarios, se dictan otras disposiciones y se deroga el Decreto 3636 de 2005. [Consultado en: 02 de julio de 2018]. Disponible en internet: <https://www.invima.gov.co/decretos-en-productos-suplementos-dietarios/decreto-3249-de-2006-pdf/download.html>

**1.5.2 Aditivos.** La necesidad del uso de aditivos en la industria de alimentos y farmacéutica radica en la importancia de modificar y/o controlar procesos físicos, químicos y biológicos inherentes a la naturaleza del producto.

- **Conservantes -antioxidantes:** son sustancias que se oxidan más rápidamente que otro tipo de moléculas. En el caso del hidrolato, la presencia de flavonoides y polifenoles en su calidad de sustancias fácilmente oxidables, y, por tanto, con notable efecto antioxidante, se hace necesario el uso y adición de un aditivo que controle dicho comportamiento para que la reducción de radicales libres y quelación de metales se ejecute dentro del cuerpo y no con moléculas del medio durante su almacenamiento.  
 “Los antioxidantes reducen el deterioro oxidativo que conlleva a la rancidez, pérdida de sabor, color y propiedades nutricionales de alimentos y bebidas extendiendo la vida útil de los mismos. Las grasas, aceites, vitaminas y otros nutrientes pueden oxidarse espontáneamente con el oxígeno cuando son expuestas al aire”<sup>14</sup>.
- **Edulcorante:** Se definen como los aditivos que confieren sabor dulce a los alimentos, y estos pueden ser extractos naturales o productos sintéticos (edulcorantes artificiales)<sup>15</sup>. En el caso de nutraceuticos es recomendable usar edulcorantes de origen natural como los especificados en la figura 2, aptos para diabéticos y con efectos nutricionales benéficos para la salud.

Figura 2. Edulcorantes usados en la industria de origen natural

<b>Edulcorantes de origen natural.</b>
Sacarosa.
Jarabe de maíz de alta fructosa. (HFCS)
Estevia.
Sorbitol.

**Fuente:** CHOI, Eugenia & EMERTON Victoria. Essential Guide to Food Additives. Vol. 3rd ed. revised by Victoria Emerton and Eugenia Choi, Royal Society of Chemistry, 2008.

<sup>14</sup> CHOI, Eugenia & EMERTON Victoria. Essential Guide to Food Additives. Vol. 3rd ed. revised by Victoria Emerton and Eugenia Choi, Royal Society of Chemistry, 2008.

<sup>15</sup> GARCÍA-ALMEIDA, CASADO FDEZ M., GARCÍA J. Una visión global y actual de los edulcorantes. Aspectos de regulación [en línea]. [Consultado en: 30 de Octubre de 2018]. Disponible en internet: <http://www.redalyc.org/Articulo.oa?id=309227005003>. 1699-5198.

La sacarosa o azúcar blanca es el endulzante natural más usado en la industria de alimentos, incluyendo en esta la industria de bebidas, sin embargo debido a los problemas de salud como la diabetes ligados al consumo en exceso de esta, que ha derivado en la creación de impuestos y legislaciones con el fin de reducir su consumo, las industrias iniciaron el desarrollo e investigación de nuevos edulcorantes que tengan primero un poder endulzante similar al del azúcar y consecuentemente su costo sea bajo. Se derivó entonces en la producción de fructosa a partir del procesamiento enzimático de la glucosa, del polialcohol sorbitol con base en la hidrogenación discontinua de la glucosa en solución acuosa y la preparación de extracto acuoso de esteviosidos a partir de la planta sudamericana denominada estevia.

**1.5.3 Análisis organoléptico.** Otro factor importante en el diseño de productos con objeto alimenticio son sus propiedades organolépticas las cuales tienen influencia sobre el consumidor; para lograr definir las y calificarlas tanto cualitativa y cuantitativamente se usa la evaluación sensorial. Según el Instituto de Alimentos de EE. UU. (IFT) se define a la evaluación sensorial como “la disciplina científica utilizada para evocar, medir analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de alimentos y otras sustancias, que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído”<sup>16</sup>.

Para el presente trabajo se desarrollaron inicialmente las pruebas de análisis **descriptivo cuantitativo (QDA)** las cuales se fundamentan en la descripción, conocimiento y cuantificación de los atributos organolépticos de un producto alimenticio por medio de un análisis de varianza o la determinación de la media según la escala de valorización a calificar.

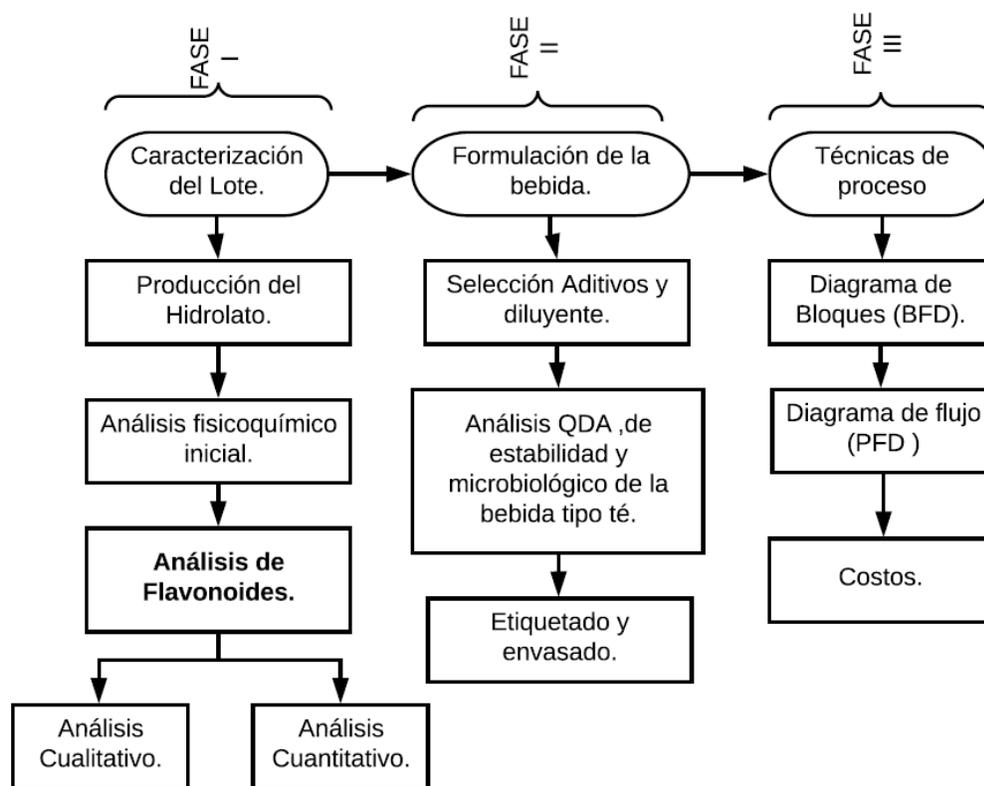
---

<sup>16</sup> SCHUTZ, H.G. Sources invalidity in the Sensory Evaluation of Food [en línea]. Food Techn. [Consultado en: 30 de octubre de 2018]. Disponible en internet: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301156290>.

## 2. METODOLOGÍA

Para el desarrollo secuencial del proyecto, se propusieron tres fases como se muestra en la figura 3. La fase I hace alusión a la caracterización tanto física y química (especialmente enfocada a los compuestos fenólicos tipo flavonoide) del hidrolato obtenido en un lote de producción. La fase II se refiere a la formulación y a las pruebas de evaluación del hidrolato como nutracéutico y/o suplemento alimenticio consumible en forma de té. Finalmente, en la fase III se propone el diseño de proceso que permitiría incorporar al método actual la producción de la bebida, convirtiendo a este subproducto en un coproducto con valor agregado del proceso principal que es la obtención de agua de rosas a partir de *R. centifolia*.

Figura 3. Fases para el desarrollo del proyecto.

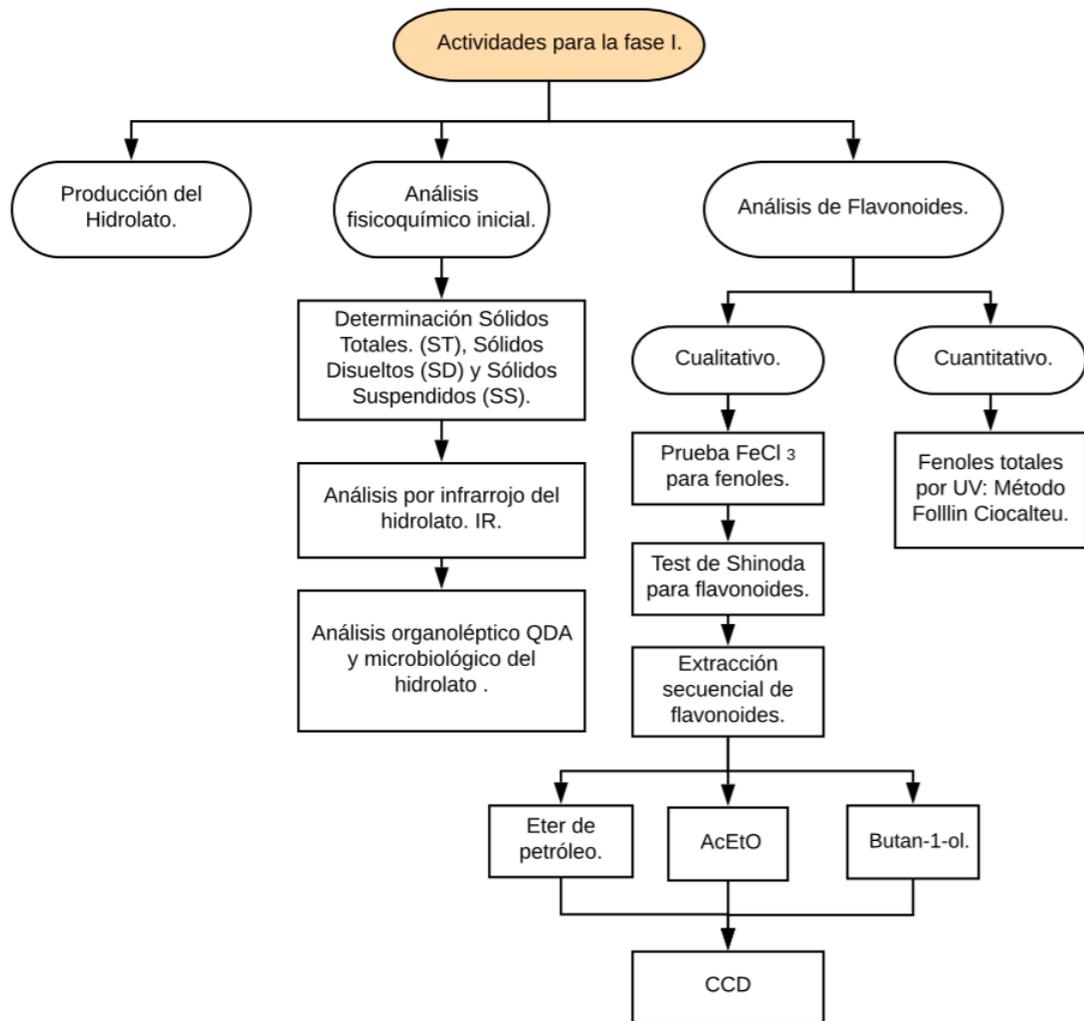


Fuente: elaboración propia.

En la figura 4 se especifican las actividades correspondientes al cumplimiento de la fase I cuyo objeto fue caracterizar la naturaleza de los componentes fenólicos existentes en el hidrolato concretamente los flavonoides. La existencia de estas biomoléculas, con efectos comprobados como antioxidantes y beneficiosos para la

salud permitirá argumentar la viabilidad de proponer al hidrolato como un nutraceutico y/o suplemento alimentario y su posterior formulación.

Figura 4. Actividades correspondientes a la Fase I.



Fuente: elaboración propia

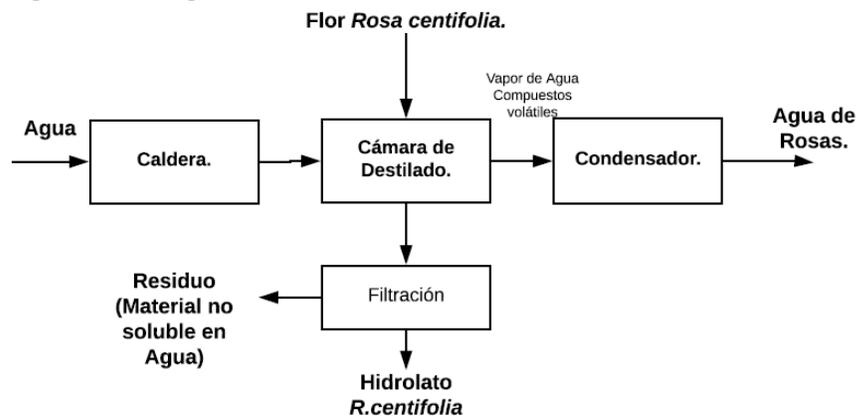
## 2.1 PRODUCCIÓN DEL HIDROLATO A PARTIR DE FLORES *R. centifolia* EN LA FINCA LAURASIA

En Tibaná, Boyacá, se produce el agua de rosas **orgánica** en el proceso de destilación por arrastre de vapor de flores enteras o pétalos de *R centifolia*, y adicionalmente, como prospecto de subproducto, se obtiene en los fondos de esta operación el denominado hidrolato de rosas a partir de la especie mencionada cultivada orgánicamente en la finca Laurasia.

En el sistema de destilación por arrastre de vapor para la producción de un lote de producto se requieren de 2-4 kg de rosas recolectados horas previas al proceso; adicionalmente 20 L de agua purificada desionizada según el procedimiento PA-02-00X-01 por el método EcoSmarte® (método que consiste primero en la decantación de partículas mayores de 50M y floculación de materia orgánica y posterior proceso de purificación por energía ionizante y filtraciones sucesivas con carbón activado, gravilla fina y vidrio pulverizado<sup>17</sup>) ingresan a la caldera donde una vez alcanzado los 97° C se produce vapor sobrecalentado durante aproximadamente 7 h que arrastra los compuestos volátiles del material vegetal contenido en la cámara de destilación. El vapor es posteriormente condensado obteniéndose un volumen aproximado 10 L de Agua de Rosas.

Por su parte de los fondos de la marmita o cámara de destilación se separa el denominado hidrolato de rosas del material sólido y/o residuo vegetal el cual se somete a una filtración por presión para obtener aproximadamente 2L de hidrolato por cada lote de producción. El proceso de destilación para la producción de agua de rosas y el subproducto hidrolato de rosas se muestra figura 5.

Figura 5. Diagrama obtención hidrolato de rosas.



Fuente: elaboración propia

## 2.2 CARACTERIZACIÓN INICIAL DEL HIDROLATO

Para los procedimientos de caracterización del hidrolato se tomó el equivalente obtenido en un lote de producción (2L), sin adición de citrato de calcio (CCa) con el fin de obtener resultados confiables. Obtenido el hidrolato se transportó bajo almacenamiento a la sombra y a temperatura ambiente desde Tibaná hasta los Laboratorios de Química de la Universidad Nacional. Una vez abierto el hidrolato,

<sup>17</sup> TELMOREHM. Ficha técnica del Agua de rosas. [Consultado en: 3 de marzo de 2019]. Disponible en internet: <https://telmorehm.com/images/Ficha-Tecnica-Agua-de-Rosas.pdf>

el excedente se mantuvo refrigerado para los procesos de caracterización restantes.

**2.2.1 Sólidos totales, disueltos y en suspensión.** Los sólidos extraíbles de las flores se dividen en dos fracciones a determinar. Para ello se siguió la metodología consignada en la Norma Oficial Mexicana para Alimentos<sup>18</sup>.

- **Sólidos totales.** Se agitó la muestra de hidrolato sin filtrar para eliminar el posible gas contenido. Se tomaron 25 ml con pipeta volumétrica y se dispusieron en una cápsula de porcelana pesada previamente. A continuación, se evaporó la muestra y se secó en estufa a 110°C. Al término de esto, se procedió a pesar la cápsula con los sólidos. Los valores numéricos obtenidos se usan en la ecuación 2 para hallar el contenido de sólidos totales presentes en el hidrolato.
- **Sólidos disueltos.** Se tomaron otros 25 ml de hidrolato previamente agitado y filtrado al vacío. Se colocaron en una cápsula de porcelana pesada previamente. Se evaporó y secó la muestra en estufa a 110°C. Se pesó la cápsula con los sólidos. Por medio de la ecuación 3 se expresan los sólidos en suspensión en g/L.
- **Sólidos en suspensión** La diferencia entre los sólidos totales y los sólidos disueltos nos proporcionó una estimación de los sólidos en suspensión existentes como se evidencia en la ecuación 4.

Ecuación 2. Sólidos Totales mg/L

$$ST \frac{mg}{L} = \frac{(A - B)}{C} \times 10^6$$

Ecuación 3. Sólidos Disueltos mg/L

$$SD \frac{mg}{L} = \frac{(A - B)}{C} \times 10^6$$

Ecuación 4. Sólidos suspendidos mg/L

$$SS \frac{mg}{L} = ST - SD$$

Donde:

A: Peso final de la cápsula en g.

B: Peso inicial de la cápsula g.

---

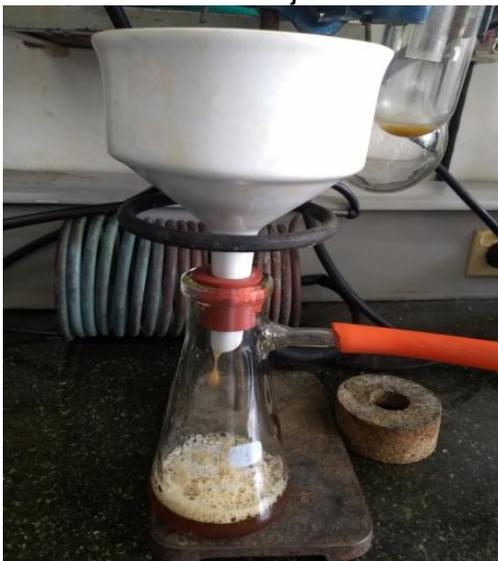
<sup>18</sup> MÉXICO.NORMA OFICIAL DE ALIMENTOS NMX-F-527-1992. Por la cual se establece el protocolo para la Determinación de sólidos totales, sólidos disueltos y sólidos en suspensión en agua [en línea]. [Consultado en 25 de noviembre de 2018]. Disponible en internet: <https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-527-1992.PDF>.

C. 25 ml de Hidrolato.

**2.2.2 Análisis inicial de componentes por Espectroscopia Infrarroja.** La espectroscopia Infrarroja es una de las herramientas usadas para la caracterización de biomoléculas. Con el propósito de comprobar la existencia de compuestos fenólicos y otros grupos funcionales en la mezcla compleja denominada hidrolato de rosas se llevó a cabo este método de análisis cualitativo.

Se inició con la filtración al vacío de 100 mL de hidrolato en un embudo de cerámica el cual es acondicionado con papel filtrante Boeco de 110 mm de diámetro en un matraz tipo Erlenmeyer con salida lateral (Kitasato) como se dispone en la Ilustración 9, al cual es conectado una bomba que produce vacío en el sistema para mayor eficiencia.

Ilustración 9. Montaje filtración Buchner.



Fuente: elaboración propia

A continuación, se ejecutó la extracción sólido-líquido, el papel filtrante una vez seco se acondicionó en un tubo de ensayo donde se aplicaron 4 ml de etanol 88% (grado industrial) extrayendo la materia residual existente en el papel producto del filtrado.

Como se observa en la ilustración 10, el fondo del tubo de ensayo contiene el extracto etanólico que se sometió a una temperatura de 50°C en el horno donde se evaporó el solvente dejando un residuo sólido que se trató de la muestra a enviar a la realización del Infrarrojo. El proceso se describe de manera simplificada en la figura 6.

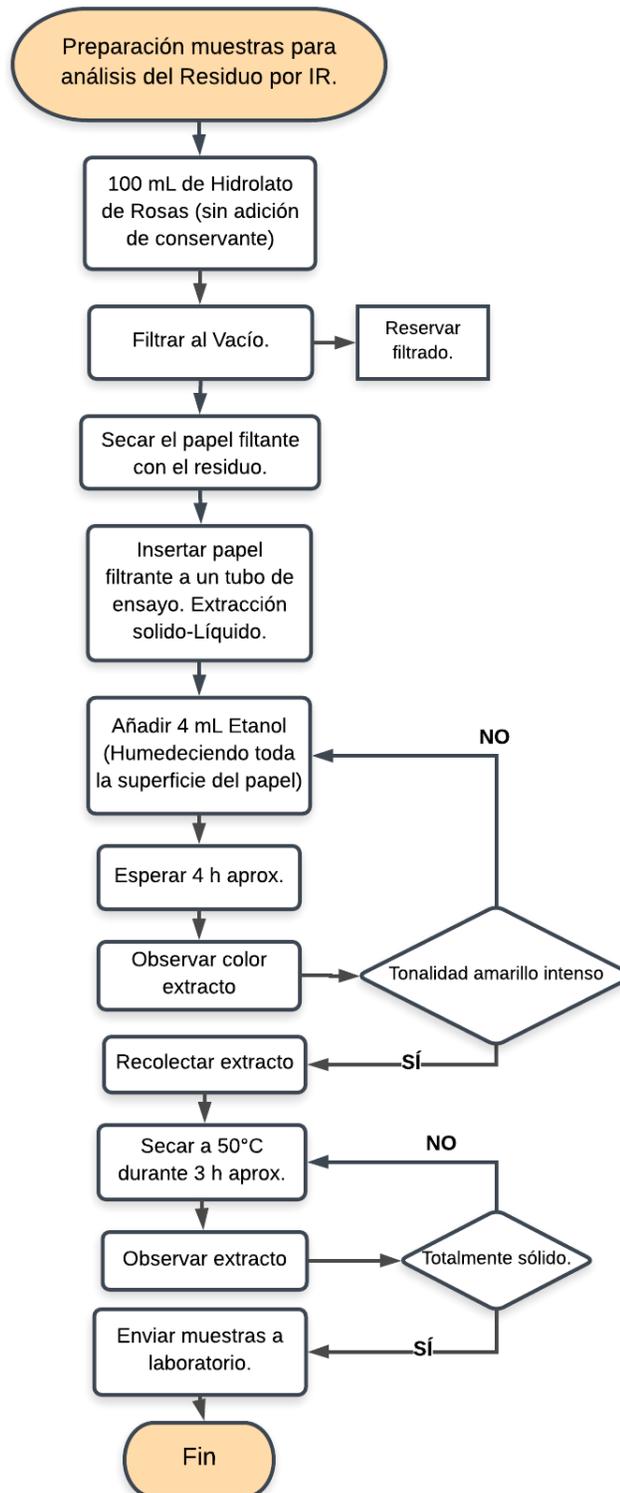
Ilustración 10. Extracción sólido-líquido.



**Fuente:** elaboración propia

Durante la ejecución de este procedimiento vale destacar la importancia de observar la tonalidad del extracto, este debe ser amarillo intenso indicando el contenido de moléculas con esta coloración retenidas en el papel lo cual con lleva a que el tiempo de extracción debe ser igual o superior a las 4 horas indicadas. Una vez obtenido el extracto la operación de secado es un punto crítico, este puede demorar más de 3 horas y adicionalmente la temperatura de 50°C debe vigilarse a fin de no calcinar el extracto; el objetivo del secado es la eliminación del agua que interferiría en la obtención y posterior lectura del espectro infrarrojo para el hidrolato.

Figura 6. Diagrama de Flujo para preparación de muestras para IR.



Fuente: elaboración propia

**2.2.3 Análisis microbiológico del hidrolato.** Para que el hidrolato de rosas pueda ser comercializado debe cumplir con reglamentación correspondiente a la carga microbiana máxima contenida en el agua para consumo humano que es establecida por el ministerio de la protección social, ministerio de ambiente, vivienda y desarrollo territorial en la resolución 2115 del 22 de junio de 2007; por esta razón se realizó un análisis de contenido microbiológico para comprobar la seguridad de la materia prima.

El análisis, realizado por los laboratorios certificados de TECMOL Farmacéutica S.A.S, incluyó lectura de coliformes totales y *Escherichia coli* cuyos valores son requeridos para la caracterización microbiológica descrita en la resolución anterior. El procedimiento de caracterización microbiológica se llevó a cabo durante un tiempo de incubación de 72 horas y el método de siembra en medio selectivo definido por la norma USP 41 NF36.

**2.2.4 Análisis Organoléptico del Hidrolato.** Se realizó la descripción sensorial, respecto a sabor y olor, del patrón (hidrolato sin dilución) con base en la calificación de 5 panelistas tipo consumidor quienes se encuentran en un rango de edad entre 18-58 años, entre los cuales dos corresponden al sexo masculino y tres al femenino. La evaluación se ejecutó según el formato de calificación del Anexo D basado en el método descriptivo cuantitativo (QDA) con la escala numérica consignada en la Tabla 1.

La metodología de Hernández<sup>19</sup> que describe en sus guías la ejecución de estas pruebas fue la pauta seguida para la evaluación sensorial del hidrolato.

Tabla 1. Escala de Evaluación sensorial del hidrolato.

<b>Escala.</b>	<b>Grado de Intensidad.</b>
<b>0</b>	Ausencia Total.
<b>1</b>	Ligera
<b>2</b>	Alta
<b>3</b>	Extrema.

Fuente: elaboración propia

El posterior análisis de resultados se realizó con la determinación de la media y gráficas de radar para la visualización del perfil sensorial del patrón. De acuerdo

<sup>19</sup> HERNANDEZ Elizabeth. Evaluación Sensorial. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD [en línea]. 2005. [Consultado en: 30 de octubre de 2018]. Disponible en internet: <http://www.inocua.org/site/Archivos/libros/m%20evaluacion%20sensorial.pdf>.

con Office52<sup>20</sup>, este tipo de gráficas muestran datos multivariados en una o dos dimensiones donde se califican 3 o más variables cualitativas. Cada eje contiene los valores de cada variable a calificar, y comienzan desde el centro de la gráfica y terminan en el anillo exterior.

## 2.3 ANÁLISIS CUALITATIVO DE FLAVONOIDES

La existencia de flavonoides en el hidrolato de rosas se corroboró por medio de pruebas netamente cualitativas.

**2.3.1 Prueba Shinoda.** Esta prueba se llevó a cabo siguiendo la metodología de Bravo A. & Acuña W.<sup>21</sup> que consiste en disponer 2-3 mL del extracto (hidrolato) en un tubo de ensayo, donde posteriormente se agrega 0,1 gr de zinc y 5 gotas de ácido clorhídrico 20%, el cual en el presente caso fue preparado en el laboratorio a partir de ácido clorhídrico concentrado 37%; finalmente se observa la coloración obtenida.

**2.3.2 Prueba de cloruro férrico.** Siguiendo también la método. Para esta prueba se siguió también la metodología de Bravo A. & Acuña descrita para la evaluación fitoquímica de *Ficus benjamina* L. Se toma 1 mL del hidrolato en un tubo de ensayo, después de preparar una solución (FeCl<sub>3</sub>) cloruro Férrico 3% se adicionan unas gotas de esta al extracto, para evidenciar mejor el color obtenido y realizar los correspondientes análisis se puede diluir la solución final del tubo de ensayo con etanol.

**2.3.3 Cromatografía en Capa Delgada (CCD).** Como explica Martínez<sup>22</sup> el eluyente idóneo para cada caso a estudiar, independiente de su origen, ha de encontrarse “por ensayo y error”; teniendo en cuenta que los antecedentes de caracterización química de esta clase de rosa son pocos, se realizó la cromatografía en CCD con tres sistemas de eluyentes de diferente polaridad descritos en el cuadro 1.

---

<sup>20</sup> OFFICE. Present your data in a radar chart [en línea]. [Consultado en: 2 de noviembre de 2018]. Disponible en internet: <https://goo.gl/jw2qk9>.

<sup>21</sup> BRAVO Andrea. & ACUÑA William. Evaluación fitoquímica y determinación de flavonoides en hojas de *Ficus benjamina* L [en línea]. En: Revista Xilema. Vol 28, p.61-65. Consultado en: [Consultado en: 30 de Octubre de 2018]. Disponible en internet: <http://revistas.lamolina.edu.pe/index.php/xiu/article/viewFile/599/582><http://www.inocua.org/site/Archivos/libros/m%20evaluacion%20sensorial.pdf>.

<sup>22</sup> MARTÍNEZ Alejandro. Iononas y Compuestos Relacionados. Antraquinonas. Medellín, Antioquia: Ed. Universidad De Antioquia, 2012.p.3.

Cuadro 1. Sistemas de elución evaluados.

---

<b>Sistema de Elución</b>
AcOEt –hexano (1:1)
AcOEt –hexano (1:4)
AcOEt-EtOH-hexano (2:1:1)

---

**Fuente:** elaboración propia

El acetato de etilo, el etanol y el hexano usados en la cromatografía son de grado analítico de pureza superior al 93% marca Merck.

El eluyente fue agregado a la cámara cromatográfica dejándola 30 minutos en reposo para saturación. Una vez que la cámara estuvo saturada, se procede a colocar las placas individualmente dentro de esta teniendo en cuenta que el borde inferior de la placa estuviera sumergido 5 mm en el eluyente sin que se tocaran las muestras aplicadas y se tapa la cámara para evitar cambios en las proporciones del disolvente. La cromatografía se desarrolló dejando correr el eluyente 6 centímetros sobre las placas

Debido a la fluorescencia intensa natural frente a la luz ultravioleta a ondas de 254 nm de los flavonoides, se eligió una fase estacionaria de gel de sílice con indicador UV-fluorescente incorporado permitiendo observar la interacción de estas biomoléculas respecto al sistema de elución utilizado y posteriormente realizar la selección de la fase móvil más conveniente para la identificación de los flavonoides presentes en el hidrolato. La pre-experimentación dio como resultado que el mejor sistema de elución fue EtOAc-EtOH-hexano (2:1:1). La placa cromatográfica obtenida es revelada, adicional a la exposición a luz de onda de UV de 254nm, con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 10% y cámara de yodo; se analizan los datos como distancias de recorrido para calcular el *Rf*.

**2.3.4 Extracción Secuencial de Flavonoides.** Un método conveniente y frecuentemente usado para obtener extractos de flavonoides es mediante la extracción secuencial líquido-líquido. Para ello se tomaron 300 mL de hidrolato, previamente filtrado y acondicionado.

Siguiendo el procedimiento descrito por Tenorio<sup>23</sup>, el primer paso es la extracción

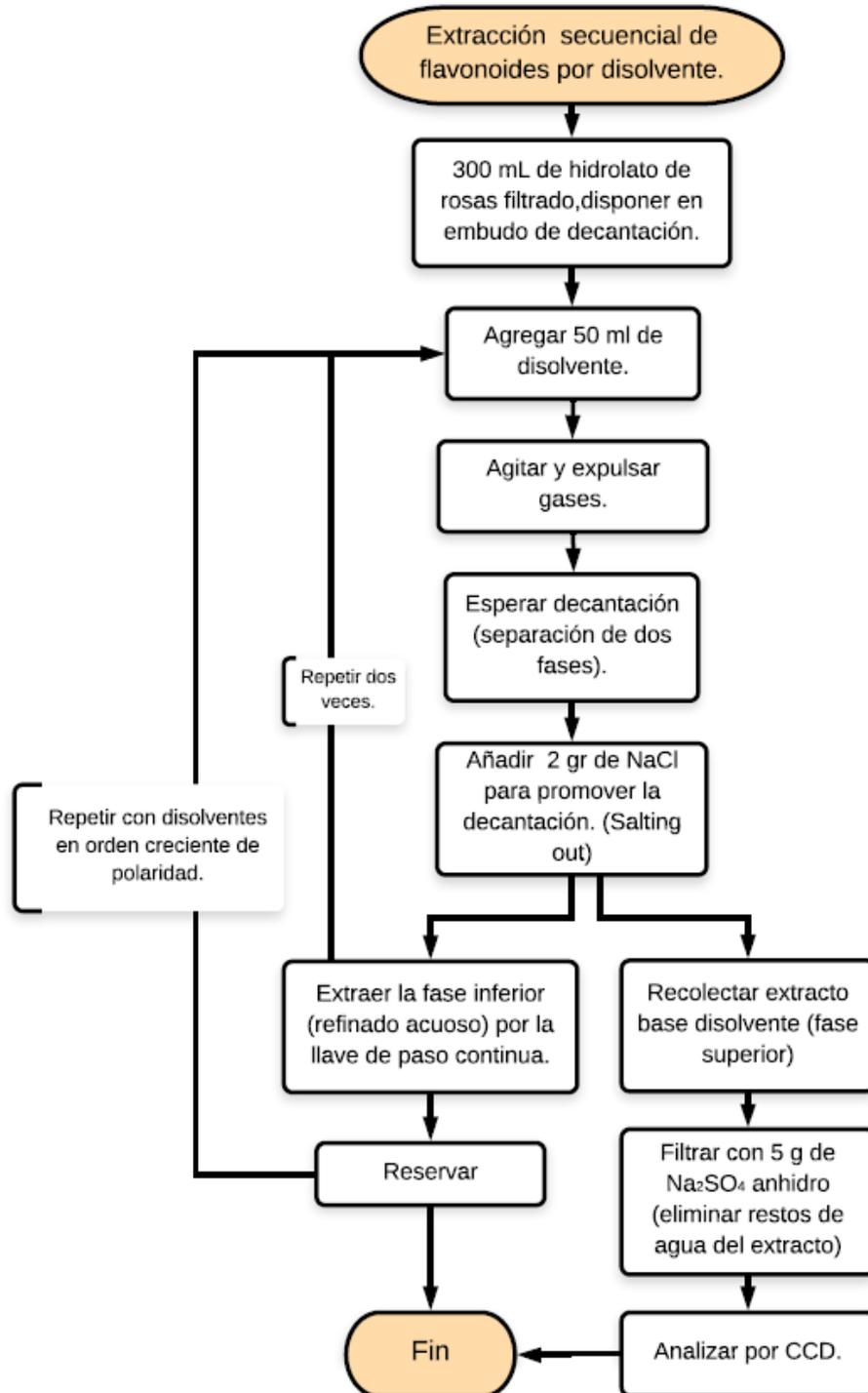
---

<sup>23</sup> TENORIO, M. Flavonoids extracted from orange peelings tangelo and their application as a natural antioxidant in sachá inchi vegetable oil [en línea]. En: *Scientia Agropecuaria*, 7(4),p. 419–431. [Consultado en: 30 de octubre de 2018]. Disponible en internet:

con un solvente de polaridad media-baja para la eliminación no solo de los compuestos menos polares sino también de otras sustancias tales como lípidos etc. presentes en la muestra a estudiar. En este caso se seleccionó el éter de petróleo para el desarrollo de la primera extracción cuyo refinado fue llevado a la extracción subsecuente con acetato de etilo y finalmente con n-butanol terminando con la obtención de un refinado acuoso final de las tres extracciones en orden creciente de polaridad. Todos los solventes usados en la extracción secuencial fueron de grado analítico con una pureza superior al 93%.

Así las moléculas apolares quedaron en la fase etérea, las medianamente polares en la fase acetato de etilo y butanol, y las más polares en la fase acuosa resultante. El procedimiento para efectuar la extracción se muestra en la figura 7.

Figura 7. Procedimiento efectuado para la extracción secuencial de flavonoides por disolventes.



Fuente: elaboración propia

Cada extracto se almacenó con los nombres incluidos en el cuadro 2, para su estudio posterior en cromatografía CCD siguiendo el procedimiento anteriormente descrito para este método de análisis y con fase móvil AcOEt-EtOH.

Cuadro 2. Abreviación extractos obtenidos

Abreviación.	Extracto.
<b>A</b>	Éter de Petróleo
<b>B</b>	Acetato de Etilo
<b>C</b>	Butanol
<b>D</b>	Refinado Acuoso final.

**Fuente:** elaboración propia

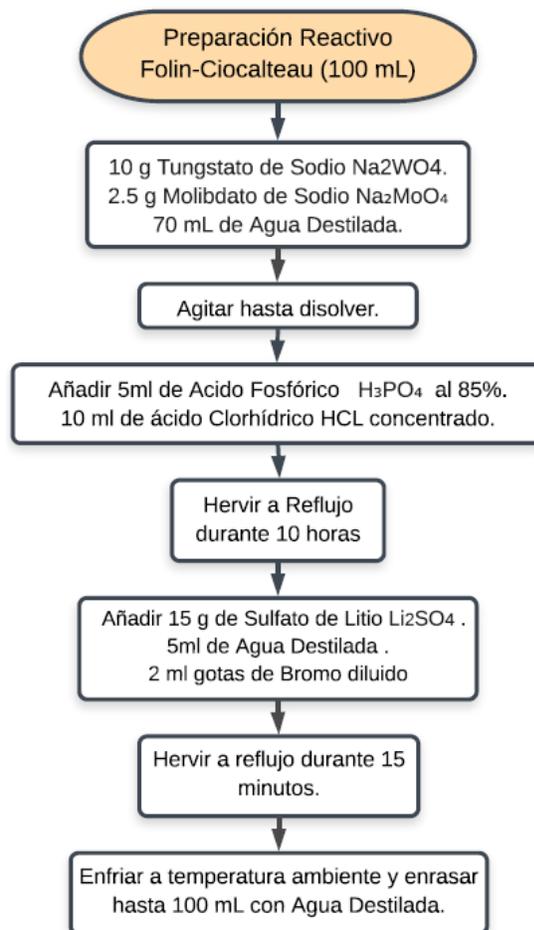
## 2.4 ANÁLISIS CUANTITATIVO DE FLAVONOIDES

La cuantificación permite obtener un valor numérico de la cantidad de moléculas activas biológicamente en una muestra. La cuantificación de Fenoles totales por espectrofotometría U.V fue el método seleccionado para el caso del hidrolato.

### 2.4.1 Determinación de Fenoles totales por U.V.: Método de Folin-Ciocalteu.

El método de Folin-Ciocalteu consiste en detectar la concentración de fenoles por la formación de sales de molibdeno de color azul cuantificables entre 700 – 765 nm. Se inició con la preparación del reactivo de Folin-Ciocalteu como se resume en la figura 8, en donde las cantidades de reactivos grado analítico a usar son críticas y los tiempos de reflujo definen la calidad del reactivo final, por esta razón el reactivo de Folin-Ciocalteu se vende preparado y con sus propiedades estandarizadas por diferentes industrias químicas.

Figura 8. Preparación del reactivo Folin-Ciocalteu.



Fuente: elaboración propia

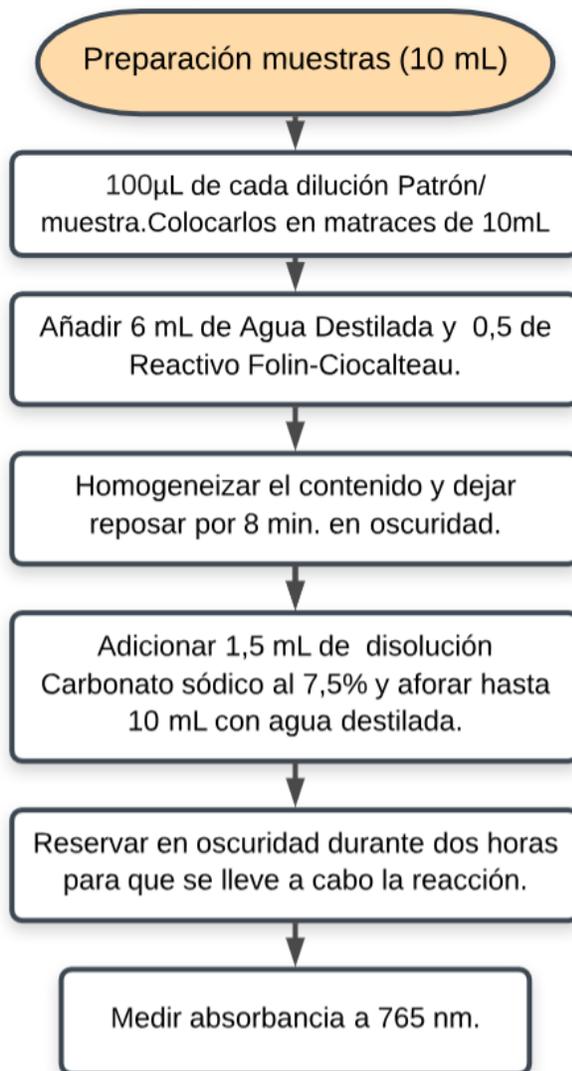
Una vez preparado el reactivo se llevó a cabo el procedimiento de cuantificación siguiendo la metodología de García & Fernández <sup>24</sup> en la que se inicia con la preparación de la solución madre de quercetina 5 mg quercetina/mL MeOH; la construcción de la curva de calibración se basó también en la metodología de referencia donde a partir de 5 concentraciones (0, 1, 0.5, 0.25, 0.13, 0.06 mg quercetina /mL) se obtiene una curva de 5 niveles.

Una vez preparada las muestras correspondientes a la curva de calibración, se prosigue con la medición de la absorbancia en un espectrofotómetro UV-visible Termo Evolution-600 con blanco de agua destilada. La metodología se adjunta en la figura 9. Los valores de absorbancia obtenidos permiten encontrar la ecuación

<sup>24</sup> GARCÍA Eva & FERNÁNDEZ Isabel. Op. cit., p. 6.

de la recta a partir de la cual se encuentra el contenido de fenoles totales CFT del hidrolato concentrado.

Figura 9. Metodología para la preparación de las muestras.



Fuente: elaboración propia

La respuesta fue expresada como **mg equivalentes de quercetina /mL**.

Este método se repitió en la evaluación cuantitativa de la estabilidad respecto al aditivo antioxidante- estabilizante.

### 3. RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados obtenidos correspondientes a la primera fase de la metodología que tiene como objeto la caracterización fisicoquímica y organoléptica de la materia prima principal. La caracterización de los compuestos presentes en el hidrolato permite argumentar las propiedades benéficas para la posterior formulación del hidrolato como una bebida nutracéutica-funcional.

#### 3.1 CARACTERIZACIÓN INICIAL DEL HIDROLATO

La observación del hidrolato recién preparado permite concluir que se trata de una solución acuosa sobresaturada, con sólidos en suspensión, de color café y tonalidades variables, en consecuencia, se requiere medir la presencia de los sólidos totales, los cuales están constituidos en sólidos disueltos y en suspensión.

**3.1.1 Sólidos totales, disueltos y en suspensión presentes en el hidrolato.** La definición de estos parámetros en el hidrolato de rosas ofrece información aplicable como un procedimiento de control del producto que puede implementarse en planta, y también es un indicador de la necesidad de realizar diluciones de este para su formulación posterior como bebida.

Tabla 2. Resultados de los Sólidos Totales presentes en el hidrolato (g/L).

Repetición	Peso inicial cápsula (g)	Peso final Cápsula (g)	ST. (g/L)
1	24.599	25.186	23.48
2	24.602	25.157	22.20
3	24.596	25.145	21.96
4	24.601	25.149	21.92
			<b>22.39 ± 0.73</b>

Fuente: elaboración propia

De acuerdo con los resultados de la tabla 2 se espera que el hidrolato obtenido directamente del proceso de producción contenga 22390 mg de Sólidos Totales por cada litro de hidrolato. Este dato justifica la turbidez, color y apariencia física del mismo; (Ilustración 11), este aspecto es concomitante con la presencia y concentración de los compuestos hidrosolubles de las flores de la *R. centifolia* y la pureza del agua utilizada en el proceso de destilación por arrastre de Vapor.

### Ilustración 11. Aspecto físico del Hidrolato



De acuerdo con la metodología propuesta, el hidrolato concentrado contiene un promedio de 14290 mg/L de sólidos disueltos como indica la tabla 3.

Tabla 3. Resultados Sólidos Disueltos presentes en el Hidrolato mg/L.

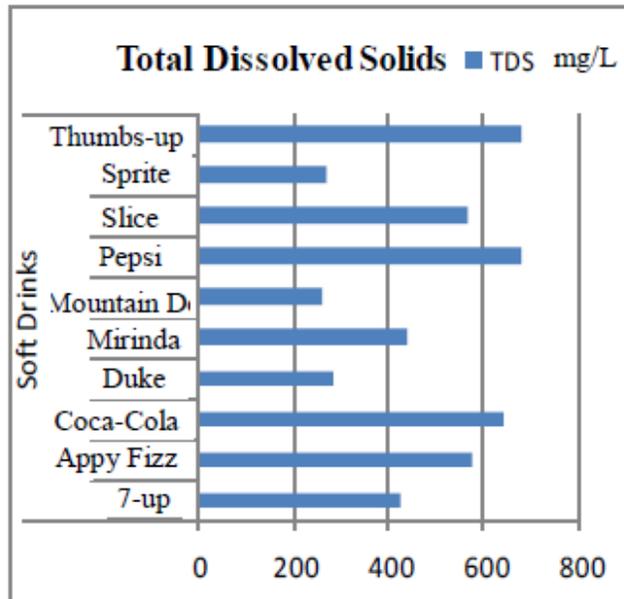
Repetición	Peso inicial cápsula (g)	Peso final Cápsula (g)	SD. (g/L)
1	24.275	24.598	12.92
2	24.28	24.714	17.36
3	24.271	24.619	13.92
4	24.275	24.599	12.96
			<b>14.29±2,09</b>

Fuente: elaboración propia

Al comparar el valor obtenido del extracto con los Sólidos disueltos para bebidas comerciales tipo refresco tanto de origen natural (Appy Fizz<sup>25</sup>) como bebidas gaseosas presentados en la Gráfica 1, se confirma la necesidad de efectuar diluciones para su formulación; en consideración que el contenido de sólidos disueltos en las bebidas comerciales se encuentran en rangos menores (5-20% del extracto de frutas, té etc.) y cuyo contenido de sólidos disueltos presenta variaciones entre 260-690 mg/L.

<sup>25</sup> Bebida carbonatada a base de jugo de manzana comercializada en India.

Gráfica. 1. Sólidos Disueltos presentes en bebidas comerciales.



**Fuente:** JAHAGIRDAR, S.S, *et al.* Comparative Study of Water Quality Parameters of Different Brands of soft Drinks. *En:* IOSR Journal of Mechanical and Civil Engineering (IOSR-JMCE), Innovation in engineering science and technology. p.148. e-ISSN: 2278-1684, p-ISSN: 2320-334X

Los datos de sólidos en suspensión se obtuvieron por aplicación de la siguiente ecuación.

Ecuación 4. Cálculo de los Sólidos Suspendedos.

$$\text{Sólidos Suspendedos } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right) = 22.39 - 14.29 = \mathbf{8.1}$$

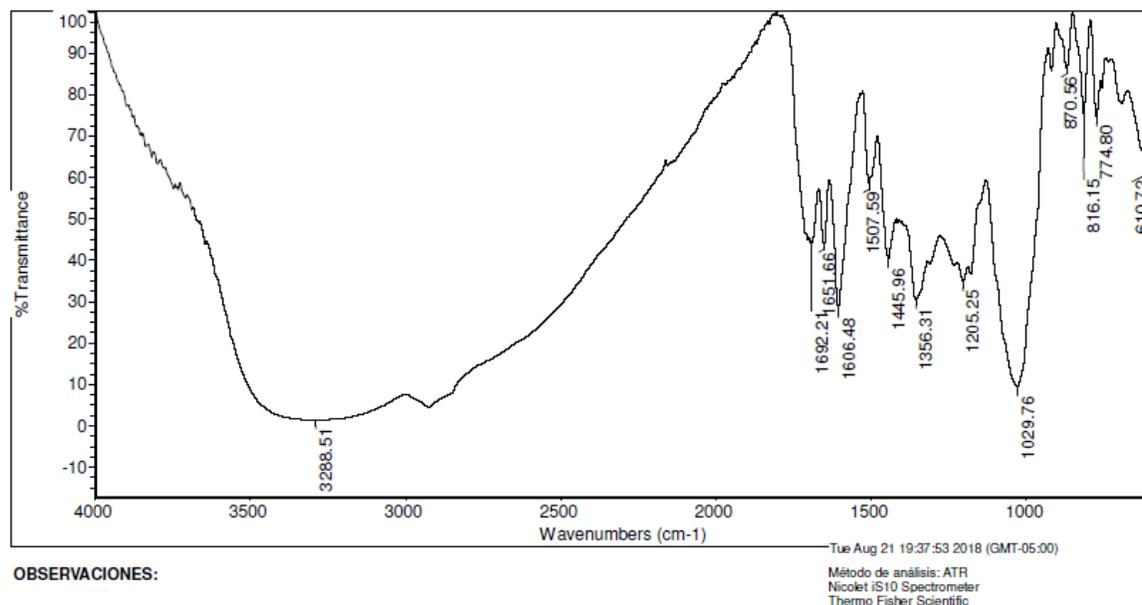
Finalmente, los datos anteriores permiten determinar la presencia de componentes altamente hidrosolubles, dado que el hidrolato posee un 64% de sólidos disueltos y un 36% de sólidos en suspensión (con base en sólidos Totales). Las operaciones matemáticas involucradas en este numeral se consignaron en el anexo A.

**3.1.2 Análisis preliminar por espectroscopia FT-IR.** De acuerdo con el análisis de los resultados previos se decide registrar el espectro FT-IR de los sólidos obtenidos por filtración. Las muestras se prepararon siguiendo los lineamientos de la metodología propuesta en el numeral 2.2.2 del capítulo anterior. Los espectros del FT-IR se registraron en el espectrómetro Nicolet iS10 Spectrometer en las

instalaciones del Laboratorio de espectrofotometría infrarroja del Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia.

El análisis por FT-IR permitió caracterizar la presencia de algunos grupos funcionales comunes en las moléculas que forman los sólidos suspendidos que por extensión se asignan a los compuestos en solución por tratarse de una solución sobresaturada. La gráfica 2 muestra el espectro del infrarrojo obtenido y el registro la repetición se adjunta en el anexo B.

Gráfica. 2. Espectro Infrarrojo Obtenido para hidrolato Filtrado.



OBSERVACIONES:

Fuente: elaboración propia

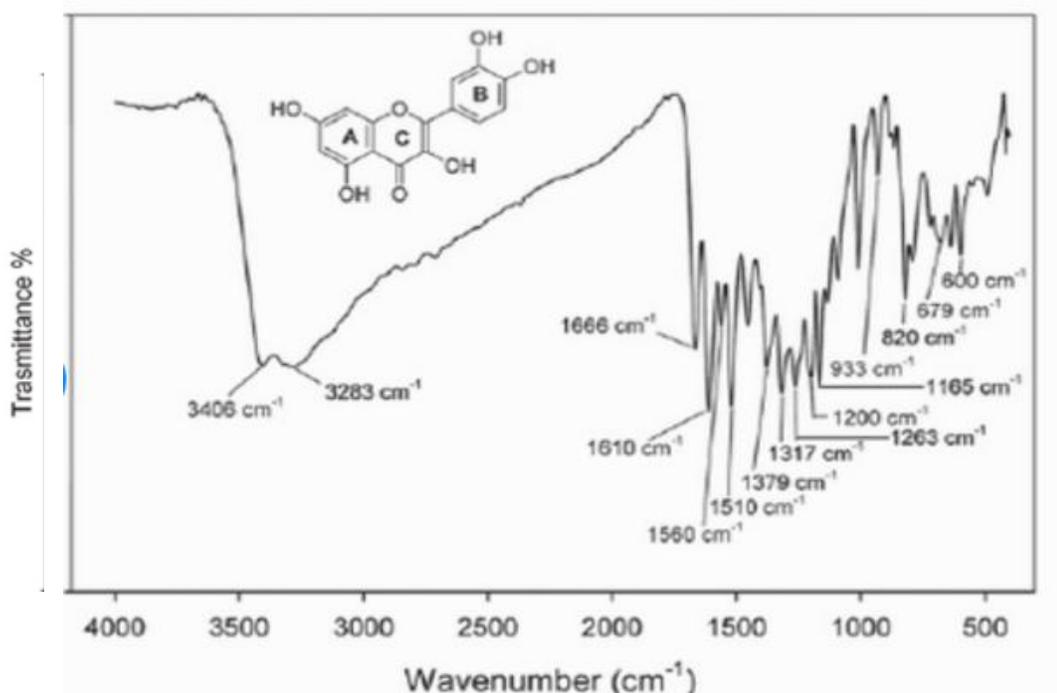
Tabla 4. Descripción señales IR obtenidas.

FRECUENCIA ( $\text{cm}^{-1}$ )	DESCRIPCIÓN	ATRIBUCIÓN.
3288.51	Banda muy ancha y pronunciada	Tensión enlace OH fenólico y ácido carboxílico (ácido gálico)
1692.21	Banda estrecha de intensidad media.	Tensión enlace C=O.
1507.59 - 1606.48	Bandas estrechas de intensidad media	Vibraciones de esqueleto por tensión de C=C de aromáticos.
1445.96	Bandas medias múltiples	Sustituyentes CH de Antocianinas- flavanonas
1356.31	Bandas múltiples	Grupos metilos y/o metoxilos
1205.25	Bandas medias múltiples	Vibraciones enlace C-O fenólicos
1029.76	Banda Fuerte y pronunciada.	Tensión del enlace C-O

Fuente: elaboración propia

Los grupos funcionales fueron atribuidos a las señales de absorción con base en la información de Heneczowski<sup>26</sup> y descritos de forma precisa en la tabla 4. Como referencia para comparación se incluye y analiza el espectro de la quercetina de la gráfica 3 la cual fue seleccionada por que se trata de un flavonoide clasificado como aglicona (no contiene azúcares como sustituyentes), es un flavonol (3 hidroxi-flavona), contiene 5 grupos hidroxilos (3, 5, 7,3',4') y se considera el bioflavonoide más común en la naturaleza. Estos derivados fenólicos son moléculas que presentan vibraciones cercanas a las bandas elásticas C=C en los esqueletos aromáticos en las frecuencias 1508, 1606.5 y 1560  $\text{cm}^{-1}$ .

Gráfica. 3. Espectro Infrarrojo para quercetina pura.



**Fuente:** CATAURO, M. et al. Silica/quercetin sol-gel hybrids as antioxidant dental implant materials. *Sci. Technol. Adv. Mater.* 16, (3) 035001.2015.

La comparación del espectro obtenido con el Infrarrojo publicado para la quercetina (gráfica 3), sugiere la presencia componentes fenólicos análogos a la quercetina y sus derivados en el hidrolato concentrado. Si bien respecto al espectro patrón se difiere en la intensidad de las bandas correspondiente a la tensión debido al enlace C-O en el anillo fenólico (1030 -1032  $\text{cm}^{-1}$ ) y la tensión correspondiente a enlace hidroxilos (3288  $\text{cm}^{-1}$ ) se presume la diferencia debido a

<sup>26</sup> HENECZKOWSKI M, KOPACZ M, NOWAK D and KUZNIAR. Infrared spectrum analysis of some flavonoids. *En: Acta Pol.Pharm.* Diciembre,2001. p. 415–420. ISSN 0001-6837.

la gran cantidad de moléculas de carácter fenólico y adicionalmente a los glucósidos que se encuentran en el hidrolato aportando OH y enlaces C-O como se observa en el espectro de la Gráfica 2. Al obtenerse una banda tan intensa asignable a los grupos OH, se deduce la alta polaridad y solubilidad de los compuestos presentes en el hidrolato que corresponden posiblemente a flavonoides glicosilados en una buena proporción.

**3.1.3 Análisis microbiológico del Hidrolato.** La presencia de los microorganismos clasificados como coliformes totales en general y como *Escherichia coli* en particular, fue negativa en el hidrolato como se aprecia en la tabla 5, cumpliendo con la Normativa del Ministerio de Protección de Salud y Protección Social para aguas con destino de consumo humano pues la normativa de estas mismas entidades es diferente para bebidas, pruebas que se llevaron a cabo una vez finalizada la propuesta de formulación para la bebida nutracéutica. Se considera también apto para ser materia prima en la preparación de otros productos. El informe completo del análisis microbiológico se encuentra en el anexo C.

Tabla 5. Análisis microbiológico del Hidrolato de Rosas.  
COLIFORMES TOTALES

METODO:	Siembra en medio selectivo. USP 41 NF 36
FECHA DE LECTURA:	2018-08-09
TIEMPO DE INCUBACION:	72 horas
RESULTADO:	AUSENTES
ESPECIFICACION:	AUSENCIA

*Escherichia coli*

METODO:	Siembra en medio selectivo. USP 41 NF 36
FECHA DE LECTURA:	2018-08-09
TIEMPO DE INCUBACION:	72 horas
RESULTADO:	AUSENTE
ESPECIFICACION:	AUSENCIA

Fuente: elaboración propia

**3.1.4 Propiedades organolépticas del hidrolato.** El análisis organoléptico es uno de los recursos más usados por las empresas del sector alimenticio durante la evaluación de diseño de productos.

En este estudio se llevó a cabo el análisis organoléptico del extracto con base en el método descriptivo cuantitativo (QDA) con fin de obtener el patrón descriptivo de sabor que será de utilidad durante la formulación (para la evaluación de las diluciones) de una bebida funcional-nutracéutica tipo té. Las gráficas tipo radar gráfica 4 para sabor y gráfica 5 para el aroma, incluyen los resultados para la evaluación del perfil del sabor y el olor para el hidrolato patrón o estándar; esta actividad se realizó con la colaboración de 5 panelistas, quienes entre un rango de

18 a 58 años realizaron la valoración numérica de las propiedades y cuyo promedio de resultados se muestra en la tabla 6.

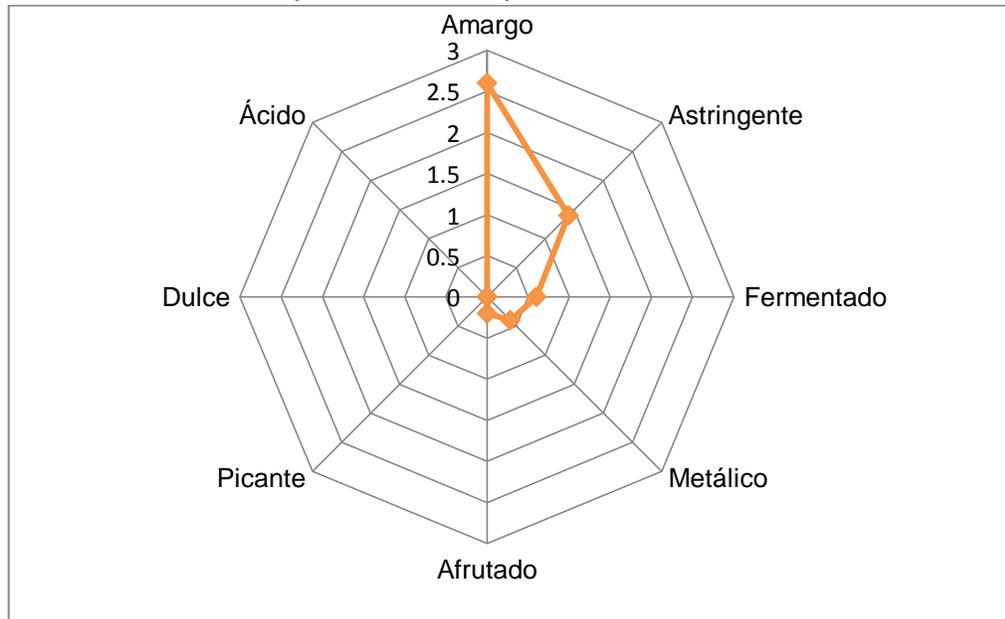
Tabla 6. Resultados numéricos de la evaluación organoléptica del hidrolato de rosas

Sabor	Total puntaje	Media	Olor	Total puntaje	Media
Amargo	13	2.6	Resinoso	12	2.4
Astringente	7	1.4	Floral	10	2
Fermentado	3	0.6	Dulce	10	2
Metálico	2	0.4	Acre	6	1.2
Afrutado	1	0.2	Ahumado	1	0.2
Picante	0	0	Frutal	0	0
Dulce	0	0	Mentolado	0	0
Ácido	0	0	Cítrico	0	0

Fuente: elaboración propia

La descripción de sabores y olores en el formato de evaluación, adjunto en el anexo D, se aplica como guía para la estandarizar de los conceptos sensoriales que cada jurado tiene con respecto a las propiedades organolépticas para la obtención de resultados cualitativos más confiables, teniendo en cuenta que se trata de un panel evaluador tipo consumidor.

Gráfica. 4. Análisis perfil de sabor para el Hidrolato

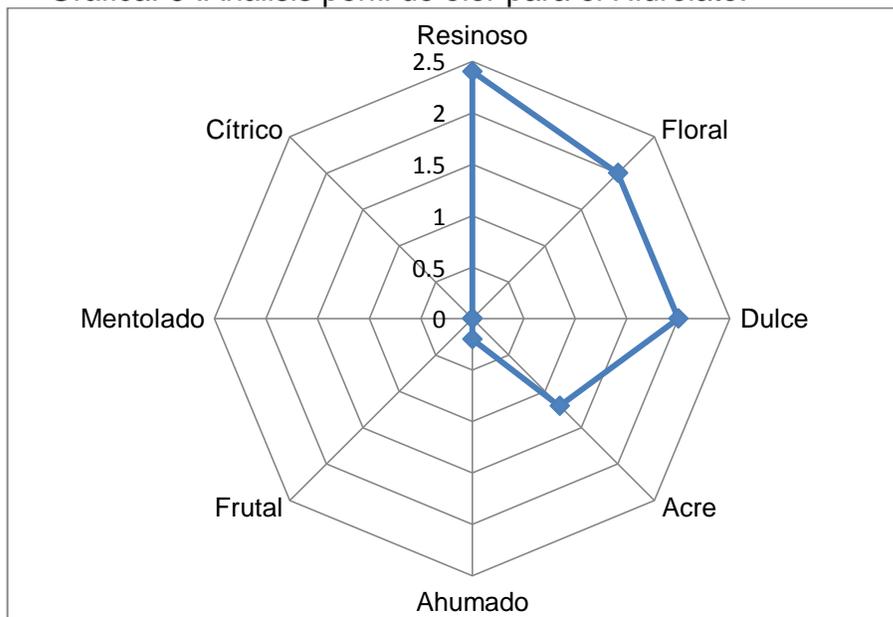


Fuente: elaboración propia

La evaluación de sabor, cuyos resultados se aprecian en la gráfica 4 de 8 variables, arrojó que el hidrolato patrón o estándar posee un sabor básico amargo

y produce sensación astringente (sequedad en el paladar) una vez es consumido, pues estas sensaciones fueron las que mayor incidencia tuvieron en la calificación de los evaluadores tipo consumidor alcanzando medias de 2.6 y 1.4 correspondientemente.

Gráfica. 5 .Análisis perfil de olor para el Hidrolato.



Fuente: elaboración propia

Por su parte el olor que mejor describe a este producto en base a los resultados de la gráfica 5, es un olor resinoso característico de productos obtenidos de extractos vegetales, con notas florales y dulces que provienen de la existencia de azúcares y otros carbohidratos propios de la *R. centifolia*; en adición se identifica un toque ligeramente acre suave derivado de la presencia de componentes fenólicos.

### 3. 2 ANÁLISIS CUALITATIVO DE FLAVONOIDES

La existencia de flavonoides y moléculas fenólicas con propiedades antioxidantes se determinó por medio de pruebas cualitativas tales como la prueba de Shinoda y la reacción  $FeCl_3$ . La caracterización cromatográfica más profunda se realizó por medio de la extracción secuencial con disolventes de diferente polaridad.

**3.2.1 Prueba Shinoda y  $FeCl_3$ .** La aplicación de las pruebas de caracterización mencionadas arroja los resultados consignados en la figura 10. En primer lugar, la prueba reductiva de Shinoda actúa sobre los grupos carbonílicos de los flavonoides transformándolos en alcoholes o hidrocarburos ( $CH_2$ ) con el

consecuente viraje de la coloración que va del naranja al rojo lo cual se considera prueba positiva para la presencia de flavonoides <sup>27</sup>. Para el caso presente se obtuvo una coloración naranja que confirma la existencia de flavonoides en el concentrado de hidrolato.

Figura 10. Resultados test de Shinoda y FeCl<sub>3</sub>.

Método	Imagen	Resultado
Test de Shinoda.		Positivo para Flavonoides.
Prueba de Cloruro Férrico FeCl <sub>3</sub>		Positivo para Fenoles.

Fuente: elaboración propia

La aplicación a una muestra de hidrolato de la prueba con FeCl<sub>3</sub> la cual se fundamenta en la formación de un complejo entre Fe (III) y los grupos hidroxilos de los fenoles produjo una coloración entre marrón y verde que confirma la presencia de compuestos fenólicos como se ratifica en la figura 10.

**3.2.2 Extracción secuencial de Flavonoides.** Como se describió anteriormente, la extracción secuencial de flavonoides por medio de solventes de diferente polaridad es uno de los mejores métodos para caracterizar la naturaleza de estas

<sup>27</sup> ESCALONA ARRANZ, Julio César. *et al.* Determinación de los posibles tipos de flavonoides presentes en el limo medicinal, materia prima [en línea]. *En: Revista Cubana de Medicina*, 2002, no. 14, p. 18. [Consultado en: 30 de octubre de 2018]. Disponible en Internet: [https://www.researchgate.net/publication/273440661\\_Determinacion\\_de\\_los\\_posibles\\_tipos\\_de\\_flavonoides\\_presentes\\_en\\_el\\_limo\\_medicinal\\_materia\\_prima](https://www.researchgate.net/publication/273440661_Determinacion_de_los_posibles_tipos_de_flavonoides_presentes_en_el_limo_medicinal_materia_prima).

moléculas y efectuar una separación preliminar. Como resultado se obtuvieron las fracciones A: éter de petróleo, B: AcOEt, C: n-butanol y D: residuo acuoso, como se muestran en la ilustración 12.

Ilustración 12. Extractos Obtenidos Extracción por solventes.



Fuente: elaboración propia

**3.2.2.1 Análisis cromatográfico por CCD.** Para cada extracto se realizó este procedimiento para un acercamiento a su estructura química. En forma preliminar se probaron varias fases móviles de distinta polaridad y los resultados nos permitieron seleccionar la fase AcOEt-EtOH-Hexano (2:1:1) como la que ofrece mejor información acerca de la naturaleza polar de los componentes con la aplicación de los siguientes métodos de revelado observables en la Ilustración 13, **1.** Análisis a la luz visible (luz de día), **2.** Observación a luz UV 254nm (fluorescencia verde) **3.** Cámara de yodo y **4.** Revelado con  $H_2SO_4/\Delta$ .

Para cada muestra se determinaron los valores conocidos como relaciones de flujo o  $R_f$  (factor de retención) que se describe según la ecuación 5 como el valor numérico de relación de velocidades de flujo en un tiempo determinado. “Las moléculas más polares quedarán más retenidas puesto que se adsorben más firmemente a los centros activos de la fase estacionaria (valor  $R_f$  menor), mientras que las no polares se eluirán con mayor facilidad”<sup>28</sup>

El valor de  $R_f$  para cada mezcla o compuesto es único y reproducible en cada sistema posible, y además puede afectarse por otros factores como la temperatura, la cantidad de muestra añadida etc. Para este procedimiento se usó como revelador luz ultravioleta UV de 254 nm. El valor de  $R_f$  para cada banda visible en la CCD se adjunta en la tabla 7.

<sup>28</sup> UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.UNAM. Prácticas de Química: Cromatografía en Capa Fina [en línea]. [Consultado: 20 de Diciembre de 2018]. Disponible en Internet: <https://www.uam.es/docencia/jppid/documentos/practicas/actuales/guion-p6.pdf>

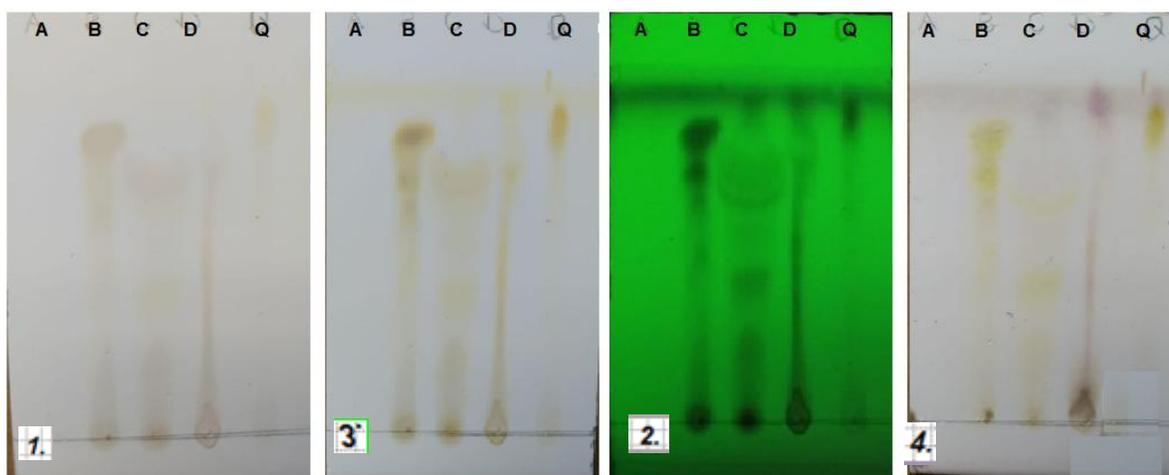
Ecuación 5.  $R_f$  (Distancia recorrida por el soluto X en relación con el diluyente desde el origen de la placa Y.)

$$R_f = \frac{x_n}{y} \times 100$$

La quercetina como aglicona fue el flavonoide usado como referencia en la CCD; su color amarillo indica la existencia de enlaces conjugados dentro de su estructura química y se trata de la molécula tipo flavonol con más presencia en alimentos de origen vegetal. Con un  $R_f$  de 87 en el sistema probado esta molécula polar sugiere que los demás componentes hallados en cada extracto presentan estructura química similar. Así mismo este valor nos indica que la mayoría de los compuestos del hidrolato presentan valores menores de  $R_f$  asociados a su mayor polaridad química, por ejemplo, presencia de azúcares como sustituyentes. Los cálculos involucrados en la determinación del valor del  $R_f$  se encuentran en el Anexo E.

- **Extracto éter de petróleo. A.** Para El extracto A se obtuvo un líquido incoloro indicativo de ausencia de moléculas flavonoides polares (Ilustración 12); se procedió con La CCD y posteriormente el revelado descrito previamente los cuales se muestran en la ilustración 13 donde se observa la quercetina (Q) como patrón de referencia.

Ilustración 13. CCD para extractos obtenidos para solventes de diferente polaridad.

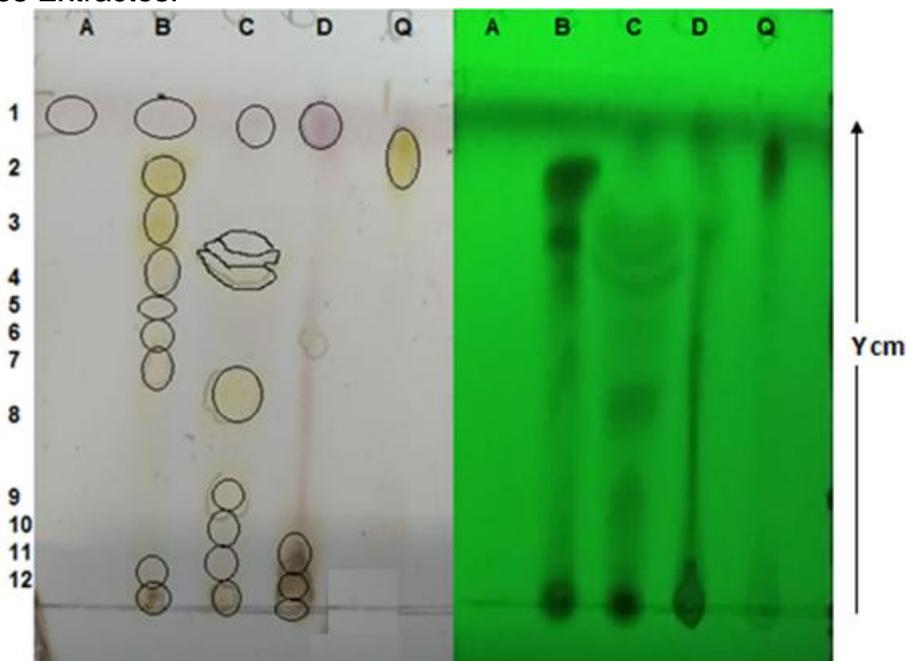


1. Vista a luz de día, 3. Revelado en cámara de Yodo, 2. Revelado 254 nm, 4. Revelado  $H_2SO_4$ . En fase móvil EtOAc-EtOH-hexano.

Para el extracto A como se ilustra, en los 4 métodos de revelado no se detectaron señales adjudicables a moléculas conjugadas procedentes de la muestra. El uso de UV 254nm evidencia la ausencia de moléculas fenólicas apolares. Se esperaría en análisis correspondientes encontrar ceras y grasas provenientes de la rosa en este residuo líquido como Martínez<sup>29</sup> explica.

- **Extracto acetato de etilo. B.** Para la fracción soluble en acetato de etilo se obtuvo un extracto de coloración ámbar turbia posiblemente debido a la presencia de agua que no se separó en el proceso de decantación como se observa en la Ilustración 12. El análisis por CCD sugiere la presencia de al menos 9 bandas que pueden corresponder a compuestos mayoritarios o a mezclas de composición similar, de carácter medianamente polar (Ilustración 14.). En la placa revelada con ácido la banda 1 o frente del solvente presenta una coloración violeta la cual sugiere presencia de terpenoides polares no arrastrables con vapor de agua en el AE (agua de rosas) como se indica en la literatura <sup>30</sup>

Ilustración 14. Numeración compuestos hallados en la CCD para los Extractos.



Fuente: elaboración propia

<sup>29</sup> Martínez, A. Op.cit.p.35.

<sup>30</sup> K. Karthika , S. Jamuna & Paulsamy S. TLC and HPTLC Fingerprint Profiles of Different Bioactive Components from the Tuber of Solena amplexicaulis. En: Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2014. p.198-206. ISSN 2278-4136.

En comparación con el patrón de quercetina, este extracto contiene esta aglicona dado que el valor de Rf para la banda 2 es de 84 mientras para el patrón de 87 como se muestra en la Tabla 7. El revelado con UV 254nm confirma la existencia de la quercetina en el extracto.

Como se explicó anteriormente la banda dos presenta la misma coloración fuerte amarilla que el patrón quercetina; mientras que para las bandas subsecuentes la presencia de flavonoides con sistema conjugado en su estructura, enlazadas otras moléculas como glucósidos, provocan un aumento de su polaridad y reducen la coloración amarilla típica de la estructura química. Los flavonoides presentes desde la banda 3-7 pueden contener las formas glucosiladas de la quercetina conocidas como quercitrina y rutina.<sup>31</sup> La banda 12, correspondiente al punto de siembra de la muestra, presenta en el revelado UV 254 nm el comportamiento característico de glucósidos y/o moléculas altamente polares. El valor de Rf para este extracto predomina entre 50 y 100.

Tabla 7. Valor de Rf para cada banda hallada en su correspondiente extracto.

Banda	Rf				Quercetina
	A	B	C	D	
1	92	92	92	92	87
2	NA	84	NA	NA	NA
3	NA	75	NA	NA	NA
4	NA	67	67	NA	NA
5	NA	53	NA	NA	NA
6	NA	45	NA	NA	NA
7	NA	37	NA	NA	NA
8	NA	NA	38	NA	NA
9	NA	NA	2	NA	NA
10	NA	NA	15	15	NA
11	NA	10	1	1	NA
12	NA	2	2	2	NA

Fuente: elaboración propia

<sup>31</sup> K.R MARKHAM .Op., cit., p. 52

- **Extracto en alcohol n-butílico.** Este extracto de color ámbar limpio y brillante contiene los flavonoides más polares que en comparación con los analizados en el extracto con acetato de etilo. Se entiende por ende la presencia de flavonoides glicosilados; por ejemplo, en la banda 8 se observa una coloración definida amarilla indicativa de contenido de flavonoides más polares que los extraídos en el extracto B. Aunque se observa un amplio rango de compuestos la mayoría de estos se concentran entre un valor de  $R_f$  0 y 70 lo cual confirma la presencia de compuestos muy polares en el extracto.
- **Residuo acuoso.** De color café-rojizo intenso, muy similar al color original del hidrolato se trata de la fracción con más coloración de las analizadas previamente. El revelado de la placa en CCD para este extracto, sugiere que el residuo contiene las moléculas solubles en agua y no en solventes orgánicos, lo cual incluye algunos oligómeros (dímeros y trímeros), cuya presencia disminuye parcialmente la solubilidad y aumenta su retención en el punto de siembra teniendo en cuenta que se tratan de compuestos altamente polares y de mayor masa molecular. Estas moléculas corresponden a flavonoides con varias unidades de azúcar tipo rutina lo que se ratifica con la coloración amarilla observada en la Ilustración 14.

### 3. 3 ANÁLISIS CUANTITATIVO DE FLAVONOIDES

Al obtenerse un valor cuantitativo de las moléculas fenólicas presentes en el hidrolato se es posible realizar la comparación de este extracto con otros obtenidos de diversas especies vegetales, el método seleccionado fue Folin-Ciocalteu base EQ (equivalente quercetina).

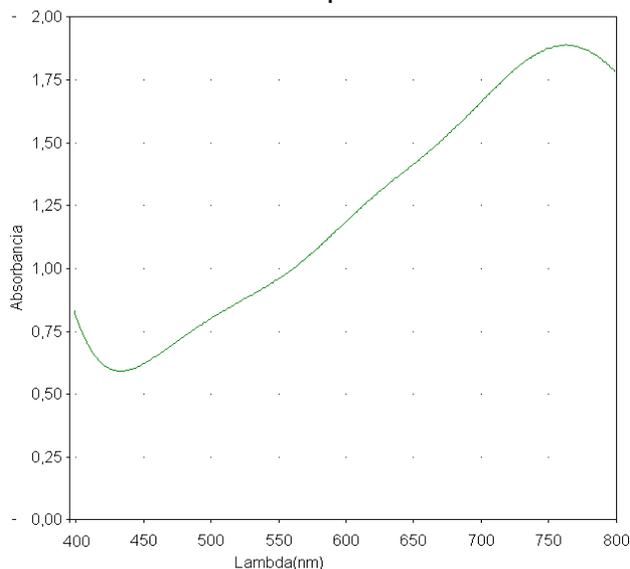
#### 3.3.1 Fenoles totales por espectrofotometría U.V.: Método de Folin-Ciocalteu.

De acuerdo con la metodología descrita en el numeral 2. 4 1 este análisis se inició con la preparación del reactivo Folin-Ciocalteu siguiendo los pasos ya especificados. El cuidado en la preparación de este reactivo reductor es básico para que se produzca la reacción colorimétrica con los fenoles presentes en la muestra y sea posible su lectura usando espectrofotometría UV a 765 nm.

En la gráfica 6. Se observa el espectro UV obtenido para la quercetina como referencia para el procedimiento; se destaca que la señal de absorción en 765 nm corresponde al producto de la reacción del reactivo de Folin-Ciocalteu con los grupos fenólicos en este flavonol. En el registro observado en la gráfica 6, en el eje Y, la señal alcanzó un valor de Absorbancia de 2 evidenciando saturación en la muestra y por ende fue necesario realizar la dilución de las soluciones; esta

modificación del método se tuvo en cuenta en la descripción de la metodología.

Gráfica. 6. Espectro de absorción para la sustancia de referencia quercetina.



Fuente: elaboración propia

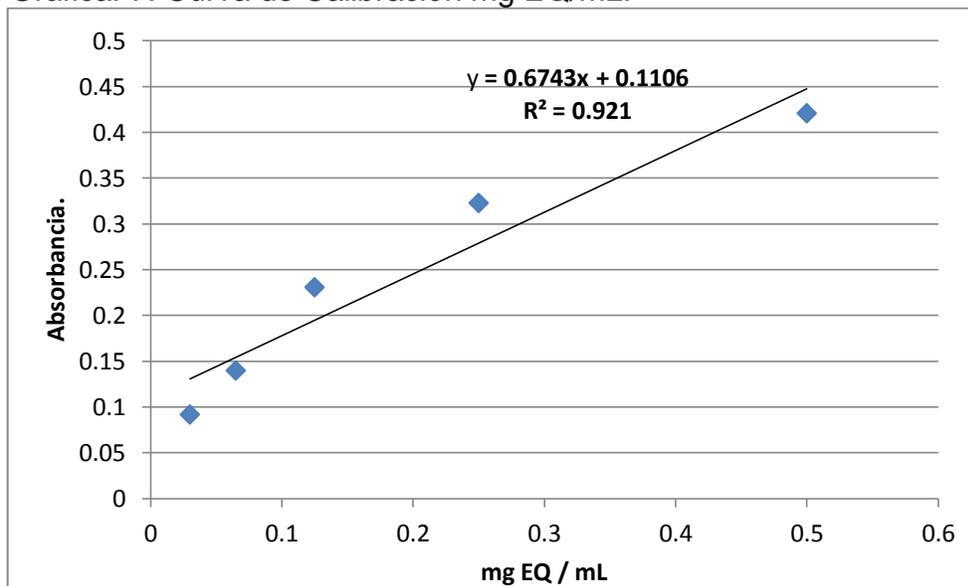
Se prosiguió con la construcción de la respectiva curva de calibración (Gráfica 7) con la quercetina como referencia y los resultados se expresados como mg Equivalentes de quercetina /mL. Si bien normalmente la sustancia de referencia utilizada es ácido gálico, se determinó que en el caso específico de estudio sería más conveniente el uso de quercetina a fin de comparar los resultados para la formulación futura del producto con literatura previamente seleccionada, adicional a que los resultados de la caracterización del hidrolato concentrado por CCD mostraron la presencia clara de quercetina. En la tabla 8 se encuentran relacionados los valores de Absorbancia y la concentración final para la elaboración de la curva de calibración (cálculos relacionados Anexo F).

Tabla 8. Valores de concentración para la construcción de la curva de calibración.

Sln madre (mL)	MeOH (mL)	Concentración final	Absorbancia 765 nm.
0.06	9.94	0.03	0.092
0.13	9.87	0.065	0.14
0.25	9.75	0.125	0.231
0.5	9.5	0.25	0.323
1	9	0.5	0.421

Fuente: elaboración propia

Gráfica. 7. Curva de Calibración mg EQ/mL.



Fuente: elaboración propia

Con base en la ecuación de la recta obtenida en la curva de calibración se sugiere una correlación aceptable de linealidad mayor de 0.9, una pendiente de 0.6743 y el punto de intersección en 0.1106 por lo que se procedió a determinar el valor de X el cual muestra el contenido total de quercetina en las muestras analizadas según se observa en la tabla 9 y en la ecuación 6.

Tabla 9. CFT para Concentrado de Hidrolato de Rosas.

Concentrado acuoso de Hidrolato.	Repetición.	Absorbancia.	CFT.	CFT.
		nm.	mg EQ/ mL	mg EQ/100 mL
	R1	0.71	0.889	88.89
	R2	1.01	1.326	132.58

Fuente: elaboración propia

Ecuación 6. Muestra de cálculos para la determinación de CFT base quercetina.

$$Y = 0.6743 X + 0.1106$$

$$X = \frac{Y - 0.1106}{0.6743}$$

$$0.889 = \frac{0.71 - 0.1106}{0.6743}$$

Donde Y = Absorbancia a 765nm de la muestra y X = CFT mg EQ/mL

Según los valores de absorbancia observados en la tabla 9, para la muestra de hidrolato concentrado se obtuvieron valores muy diferentes en la repetición del método, pues como Blainski<sup>32</sup> describe en su investigación las lecturas de reacciones colorimétricas por espectro UV son muy sensibles. Se decide usar el dato de CFT para la absorbancia de 0.71 debido a que los valores mayores a 1 en espectrofotometría UV no son muy confiables por la posible presencia de saturación de la muestra, manchas en la cubeta de medición y otras obstrucciones que modifican la lectura, por lo cual se descarta esta medición.

Otra variable que influye en la cantidad de CFT es el tiempo, dado que los flavonoides son moléculas muy sensibles a la oxidación (por lo tanto, son excelentes antioxidantes) la literatura recomienda que la medición se realice el mismo día de preparación de las muestras, sin embargo, por factores externos las medidas se realizaron 3 días después del acondicionamiento disminuyendo la cantidad de CFT base quercetina encontrados en el concentrado de hidrolato.

A pesar de las variables que afectaron la toma de las medidas, se reporta que el CFT es de  $88.9 \pm 2$  mg EQ en cada 100 mL de hidrolato concentrado, valor que es aproximadamente 5 veces mayor que el encontrado en literatura para el jugo de arándanos fresco que contiene 17.5 mg E/100 mL<sup>33</sup>. Lo anterior corrobora el alto contenido antioxidante de los fenoles presentes en el hidrolato concentrado y su viabilidad como materia prima para el desarrollo de una bebida nutracéutica-funcional natural.

---

<sup>32</sup> BLAINSKI, A. y J. Palazzo de Mello. Application and analysis of the Folin Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L.. En: *Molecules* . Junio, 2013. Vol.18. p. 6852-6865. ISSN 1420-3049.

<sup>33</sup> ANDERSEN Oyvind & MARKHAM Kenneth. Op., cit., p. 234.

## 4. FORMULACIÓN DEL NUTRACÉUTICO

Para definir la formulación del nutraceutico a partir de hidrolato, se tuvieron en cuenta los parámetros y especificaciones en los que la Legislación colombiana hace énfasis para el desarrollo de suplementos dietarios que es el término usado en la misma para nutraceutico:

- No se aceptarán como suplementos dietarios aquellos productos que contengan como ingredientes activos únicos, los establecidos en las normas farmacológicas.
- Se aceptarán los ingredientes establecidos por las siguientes entidades de referencia: FDA; Codex Alimentarius; European Food.
- No podrán contener sustancias que representen riesgos para la salud.<sup>34</sup>

### 4.1 DEFINICIÓN DEL PRODUCTO- INGREDIENTES BIOACTIVOS

De acuerdo con la definición previa de nutraceutico, un nuevo producto requiere de principios bioactivos que ofrezcan las propiedades saludables que requiere el producto para que sea funcional. En este trabajo la materia prima básica es el hidrolato fresco de *R. centifolia* el cual como ya se demostró contiene como compuestos mayoritarios una mezcla de bioflavonoides los cuales clasifican como ingredientes bioactivos. Estos componentes son los que le dan propiedades benéficas a la salud y justifican la propuesta de un producto funcional. Los resultados previos sugieren que los compuestos mayoritarios son derivados fenólicos tipo flavonoides simples o agliconas y complejos como derivados glicosilados; estos componentes actúan como antioxidantes en el organismo por tener la capacidad de atrapar (“scavenger”) radicales libres (electrones no apareados) y de esta manera proteger las células de los tejidos de humanos, mamíferos y plantas superiores.

A nivel comercial los flavonoides (usualmente aislados y por ende en concentraciones altas) se venden en cápsulas, mientras su formato en alimento por lo regular se presenta en tipo bebida derivada de extractos de frutas, café o té, declarando simplemente “alto contenido de antioxidantes”. En consideración a que el hidrolato (ingredientes bioactivos), se obtiene en fase líquida debido a que se trata de un subproducto de la destilación de la *R. centifolia* se decidió conservar la presentación en esta fase. Adicionalmente, si bien el hidrolato obtenido tal cual podría venderse como extracto de rosas de sabor fuerte, la propuesta del diseño

---

<sup>34</sup> MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL. Óp., cit., p. 3.

de un nutracéutico tiene como fin crear un producto que sea fácilmente integrado en la dieta diaria del consumidor, y que desde su presentación hasta su sabor sea atractivo para el cliente, por incorporación de las propiedades benéficas de los antioxidantes (flavonoides) y por ende acercándose a la definición de un alimento funcional. Por lo anterior se propone el diseño de una bebida tipo té, bebida clara o denominada en inglés “clear beverage” que se tratan de bebidas de aspecto claro (de transparente, pasando por amarillo oro natural hasta tonalidades de café) y baja turbidez.

#### 4.2 SELECCIÓN ADITIVOS Y DILUYENTE PARA EL HIDROLATO

Para la selección de los aditivos, específicamente del antioxidante-conservante y el edulcorante a usar en la bebida nutracéutica, se usó la técnica ponderada que consiste en un método de selección de conceptos creado por Pugh<sup>35</sup> y aquí aplicado al diseño de productos. Este consiste en el desarrollo y evaluación de una matriz de decisión en 5 pasos evidenciados en la ilustración 15, la asignación de los criterios de evaluación, las alternativas a evaluar y los resultados de selección para los aditivos se desarrollan a continuación.

Ilustración 15. Metodología de selección ponderada-matriz decisión.

**Método de selección ponderada o convergencia controlada**

1. Asignar criterios de selección
2. Asignar factor de importancia a cada criterio
3. Establecer la puntuación a cada criterio, se realiza en forma de símbolo, ya sea una puntuación positiva, negativa o neutral
4. Matriz de Calificación
5. Calcular suma ponderada con

$$M_i = \sum_{j=1}^M a_{ij} * w_j$$

**Fuente:** PUGH. Métodos integrados para la ingeniería de productos. Disponible en: [https://www.researchgate.net/Publication/272477876\\_evolucion\\_de\\_los\\_modelos\\_del\\_proceso\\_de\\_diseno](https://www.researchgate.net/Publication/272477876_evolucion_de_los_modelos_del_proceso_de_diseno)

---

PUGH. Métodos integrados para la ingeniería exitosa de productos [en línea]. [Consultado: 18 de febrero de 2019]. Disponible en internet: [https://www.researchgate.net/publication/272477876\\_EVOLUCION\\_DE\\_LOS\\_MODELOS\\_DEL\\_PROCESO\\_DE\\_DISENO](https://www.researchgate.net/publication/272477876_EVOLUCION_DE_LOS_MODELOS_DEL_PROCESO_DE_DISENO)<sup>35</sup>

**4.2.1 Conservante-antioxidante.** Como García<sup>36</sup> describe, los aditivos usados comúnmente en alimentos funcionales, nutracéuticos y/o suplementos dietarios poseen propiedades benéficas para la salud reforzando el carácter nutritivo de los mismos. La selección de conservantes en bebidas depende en mayor parte de la estabilidad, solubilidad, interacción con los ingredientes presentes en la solución y por supuesto del valor económico. Por medio de investigación mediante fuentes de información como US Patent y Knovel se obtiene que entre los aditivos antioxidantes y reguladores de acidez ampliamente usados en la industria de bebidas se encuentren sales de sodio y calcio.

Debido al actual sobreuso de las sales de sodio en la industria de alimentos y a su vínculo directo con enfermedades cada vez más abundantes como la hipertensión y consecuentemente a accidentes cardiovasculares<sup>37</sup> se descarta el uso de estas sales como conservante-antioxidante de la bebida a formular. Siguiendo la recomendación de uso de las sales de Calcio como conservante Gerstner<sup>38</sup> expone que si bien las sales orgánicas de calcio son más costosas que sus equivalentes inorgánicos, el rango de calcio contenido, sabor, solubilidad, poder antioxidante y estabilizador es mayor como se observa en la Tabla 10.

Tabla 10. Características Importantes de las fuentes comunes de calcio usadas en la industria de Alimentos.

Producto	Solubilidad a 25°C (g/L).	Gusto	Contenido de Calcio	Precio US/kg	FAO límite de consumo diario
*Carbonato de Calcio	Insoluble	Jabonoso, cítrico	40%	--	
*Fosfato de Calcio	Insoluble	Arenoso, poco perceptible.	17-38%	--	
Citrato de calcio	<b>0.2</b>	<b>Limpio, inoloro.</b>	<b>21%</b>	<b>2.5</b>	<b>QS</b>
Lactato cálcico	<b>9.3</b>	<b>Perceptible levemente</b>	<b>13%</b>	<b>3.2</b>	<b>QS</b>
Gluconato lactato de calcio	<b>45 – 50</b>	<b>Neutral</b>	<b>10-13%</b>	<b>3.5</b>	<b>QS</b>

<sup>36</sup> GARCÍA-BENAVENTE O.MOLINA S. Antioxidantes en la salud, en la enfermedad y en la Alimentación: Alimentos Funcionales [en línea]. [Consultado: 30 de octubre de 2018]. Disponible en internet: <https://www.um.es/lafem/Actividades/OtrasActividades/CursoAntioxidantes/MaterialAuxiliar/2012-03-06 AntioxidantesSaludAlimentosFuncionales.pdf>.

<sup>37</sup> ALBARRACÍN W. & SÁNCHEZ R. Salt in food processing; usage and reduction: a review [en línea]. [Consultado: 18 de marzo de 2019]. Disponible en internet: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.2010.02492.x>

<sup>38</sup> GERSTNER Gerard. How to fortify Beverages with Calcium. En: Food Marketing & Technology. 2013 .

Tabla 10. (Continuación)

Producto	Solubilidad a 25°C (g/L).	Gusto	Contenido de Calcio	Precio US/kg	FAO límite de consumo diario
Gluconato cálcico	3.5	Perceptible levemente.	9%	3.2	800 mg

\*Sales Inorgánicas de Calcio

\*QS: Quantum satis. No se especifica un valor de Ingestión Diaria, no representa riesgo alguno para la salud humana según la FAO.

**Fuente:** GERSTNER Gerard. How to fortify Beverages with Calcium. En: Food Marketing & Technology.2013

Con base en la tabla 10, y debido a las propiedades superiores de las sales orgánicas frente a las inorgánicas de calcio previamente explicadas, se decide realizar una matriz de decisión para elegir entre los cuatro componentes el de mayor conveniencia de acuerdo a cinco criterios especificados en la tabla 11.

Tabla 11. Matriz de decisión para el aditivo antioxidante-conservante.

Criterio	Clasificación (1-3)	Alternativas			
		Citrato de calcio	Lactato cálcico	Gluconato láctico de calcio	Gluconato de calcio
Solubilidad 25° C	2	0	0	+	0
Gusto	3	+	-	0	-
Contenido de calcio.	2	+	0	0	-
Costo	3	+	0	-	0
Efectos en la salud.	3	0	0	0	-
<b>Resultados.</b>					
Suma de positivos.		3	0	1	0
Suma de negativos.		0	1	1	3
Suma de neutros.		2	4	3	0
Suma ponderada de positivos.		8	0	2	0
Suma ponderada de negativos.		0	3	3	8
<b>TOTAL</b>		<b>8</b>	<b>-3</b>	<b>-1</b>	<b>-8</b>

\* 1 menor importancia, 2 importancia media, 3 importancia alta.

Como conclusión de la matriz de decisión se define al citrato de calcio como la mejor alternativa de aditivo antioxidante seguido por el gluconato láctico de calcio pues fueron los que mayor puntaje ponderado, 8 y -1 correspondiente, alcanzaron según los criterios evaluados; para el criterio referente a los efectos en la salud se consultó el Codex alimenticio elaborado por la Unión europea, aceptado por la FAO y base de la legislación Colombiana donde la definición del límite de consumo diario indica una posible incidencia en la salud humana, en el caso presente el gluconato de calcio, si bien es una sal usada en la industria para

enriquecer los alimentos con calcio al igual que las demás evaluadas, un exceso sobre el límite ha demostrado efectos secundarios como náuseas, estreñimiento y malestar estomacal; para las demás sales de calcio orgánicas evaluada su estado Quantum satis indica que no existe un valor máximo de consumo diario ,no representa riesgo alguno para la salud humana aún encontrado y según las buenas prácticas de manufactura indica que “añádase cuanto sea necesario del ingrediente para que sea alcanzado el efecto deseado, pero no se añada más si se considera demasiado”<sup>39</sup>.

Seleccionado el citrato de calcio (“tricalcium citrate”), denominado bajo el código E-333 dentro de la legislación europea se describe como: “aditivo ampliamente usado en la industria como antioxidante (que se reduce fácilmente antes de que los ingredientes se vean afectados por acción del oxígeno u otros agentes), regulador de acidez y fuente del ion calcio lo que lo hace atractivo a la industria de suplementos dietarios en la producción de bebidas fortificadas con calcio jugos frutales (especialmente de naranja y uva), néctares, leches vegetales y comida para bebés. En comparación con otras sales de calcio es soluble a bajas temperaturas y esta se incrementa con disminución del pH por debajo de 4,5 lo cual disminuye el consumo de energía en un proceso”<sup>40</sup>.

De acuerdo con el Indexa Merck <sup>41</sup> el citrato de calcio tiene una fórmula  $C_{12}H_{10}Ca_3O_{14}$  con un peso molecular de 498,44 g/mol. El Cca se obtiene a partir de frutas cítricas patente Cole U.ST 2,389,766 de 1995 concedida a California Growers Exchange<sup>42</sup>.y soluble en 1050 partes de agua fría e insoluble en alcohol. Se sugiere utilizar una cantidad suficiente a determinar de citrato de calcio por litro de solución para preservar los ingredientes activos (flavonoides) y evitar su oxidación.

**4.2.2 Diluyente.** Un vehículo en un suplemento alimenticio y fármaco se define como la “sustancia líquida inerte que se usa en las formulaciones farmacéuticas para diluir el complejo total hasta un volumen o peso determinado”<sup>43</sup>, este puede ser de naturaleza acuosa u oleosa y su elección depende de la naturaleza del principio activo definido para el caso de un fármaco o nutracéutico.

---

<sup>39</sup> AGENCIA ESPAÑOLA DE SEGURIDAD ALIMENTARIA Y NUTRICIÓN. Quantum satis [en línea]. [Consultado: 30 de octubre de 2018]. Disponible en internet: <http://www.aecosan.msssi.gob.es/SIAC.WEB/pregunta.do;jsessionid=hNcPWRmby1R1cgqw7xpTqhJTsZcqNsQ4hKznnQTT518ktZpJyhXS!2003377714?reqCode=retrieve&bean.id=2922>

<sup>40</sup> GERSTNER Gerard. Op, cit. p 4.

<sup>41</sup> MERCK Y COMPANY INC.The Index Merck. Ninth edition. 1976. p. 211.

<sup>42</sup> Rudy. Pharmazie. Vol 4. P393 de 1949.

<sup>43</sup> FINCHER, J.; BEAMER, Robert L.; [Et al.] (1986). Dictionary of pharmacy. Columbia: University of South Carolina Press. ISBN 9780872494442.

Según los resultados obtenidos y comparando con otros suplementos dietarios comerciales que venden extractos de frutos y vegetales con altas concentraciones de vitaminas y flavonoides se encuentra que el vehículo de la formulación es normalmente agua. Además de obtener la máxima concentración de flavonoides polares con diluyente agua, los costos ligados a la producción del hidrolato son menores si se usara en comparación otro diluyente.

La formulación de un nutraceutico funcional requiere una cuantificación confiable y reproducible, dado que la cantidad de rosa inicial puede ser variable (3-4 kg por lote) se sugiere realizar diluciones a volumen constante, esta dilución debe hacerse con la misma agua purificada de la producción de agua de rosas.

**4.2.3 Edulcorante.** Para un nutraceutico de origen natural se selecciona como aditivo endulzante una sustancia también de origen natural y que preferentemente no represente riesgos a la salud del consumidor, sino que al contrario sea una fuente de nutrientes, en la tabla 12 se consignan algunas propiedades de los edulcorantes de origen natural que involucran modificaciones químicas y físicas en su producción usados a escala industrial en la actualidad.

Tabla 12. Propiedades de algunos edulcorantes naturales.

Producto	Carbohidratos (100 g)	Apariencia.	Origen.	Precio US/kg	FAO límite de consumo diario
Jarabe de maíz de alta fructosa	76 g	Líquido viscoso.	Maíz	0.50	No definido, afecta riñones causa obesidad y adicción.
Sacarosa/azúcar común.	100 g	Sólido-cristales.	Caña de azúcar	1	25 g. No apto para diabéticos
Estevia.	0	Líquido.	<i>Estevia rebaudiana</i>	25	QS
Sorbitol.	24 g	Sólido-cristales altamente solubles en agua.	Frutas.	15	50 g. Apto para diabéticos, no apto para personas celiacas, efecto laxante.

**Fuente:** FAO. Relativa a aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes. En línea. Citado el: 24 de Febrero de 2019. Disponible en internet: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:01995L0002-20101112&from=BG>

Para la selección del agente edulcorante se sugiere nuevamente el uso de la matriz ponderada de decisión. En la tabla 13 los criterios de decisión incluyen el costo en el mercado, estado de la materia del mismo (influye en las unidades de proceso de la bebida) y los límites de consumo establecidos por la FAO.

Tabla 13. Matriz de decisión para el aditivo edulcorante.

Criterio	Clasificación (1-3)	Alternativas			
		Jarabe de maíz de alta fructosa.	Sacarosa	Estevia	Sorbitol
Carbohidratos aportados	2	-	-	0	0
Apariencia/estado.	2	-	-	+	+
Costo	3	+	+	-	0
Efectos secundarios	3	-	-	+	-
<b>Resultados.</b>					
Suma de positivos		1	1	1	1
Suma de negativos		3	3	1	1
suma de neutros		0	0	2	2
Suma ponderada de positivos		3	3	5	2
Suma ponderada de negativos		7	7	3	3
<b>TOTAL</b>		<b>-4</b>	<b>-4</b>	<b>2</b>	<b>-1</b>

\* 1 menor importancia, 2 importancia media, 3 importancia alta.

La estevia, edulcorante bajo en calorías ampliamente usado hoy en día debido a que es apto para personas diabéticas se postula como la mejor opción de edulcorante para bebidas funcionales según los resultados de la matriz de decisión seguido por el edulcorante polialcohol Sorbitol. Nombrado bajo el código E-960 en la legislación europea como glucósidos de esteviol (esteviolglicósidos caracterizados por un enlace C-C entre el diterpeno y el azúcar de alta estabilidad a nivel gástrico), es hasta 300 veces más dulce que el azúcar común; vale destacar también que estos compuestos son estables al calor, poseen un pH estable y no sufren fermentación.

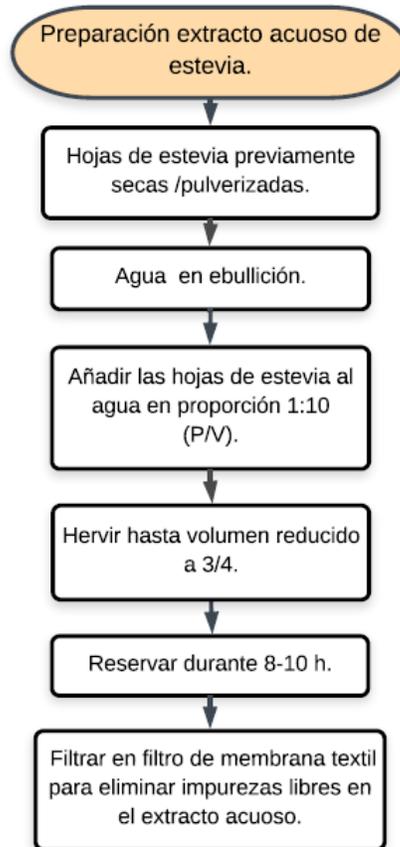
Según la FAO y el Codex Alimentario, legislaciones en las que está basada la normativa INVIMA en Colombia, el nivel máximo permitido de esteviolglicósidos en alimentos dietéticos (suplementos dietarios) y bebidas base agua desde el 2011 se encuentra en estado Quantum satis explicado previamente.

Si bien hoy en día muchas empresas productoras de bebidas han optado por el uso de la estevia en combinación con otros edulcorantes no calóricos artificiales como sustituto de la sacarosa, la proporción exacta de la estevia no es publicada en las tablas nutricionales por lo tanto se decidió para el presente proyecto determinar la cantidad óptima en la bebida a formular.

**4.2.3.1 Preparación del extracto acuoso de estevia.** El extracto acuoso de estevia o almíbar, usado para endulzar la bebida se prepara a partir de agua y hojas de estevia previamente secas y adquiridas de un mercado “Fruver”.

La Figura 11. Resume la preparación del extracto acuoso como describió Karacala<sup>44</sup> en su estudio para la adición de estevia en Jugos Frutales. Vale Destacar que comercialmente la cantidad usada en té helado y jugos naturales endulzados con azúcar es la misma (16-25 g por cada 200 mL) por lo que el estudio realizado por Karacala es extrapolable al diseño de esta bebida.

Figura 11. Preparación extracto acuoso de Estevia.



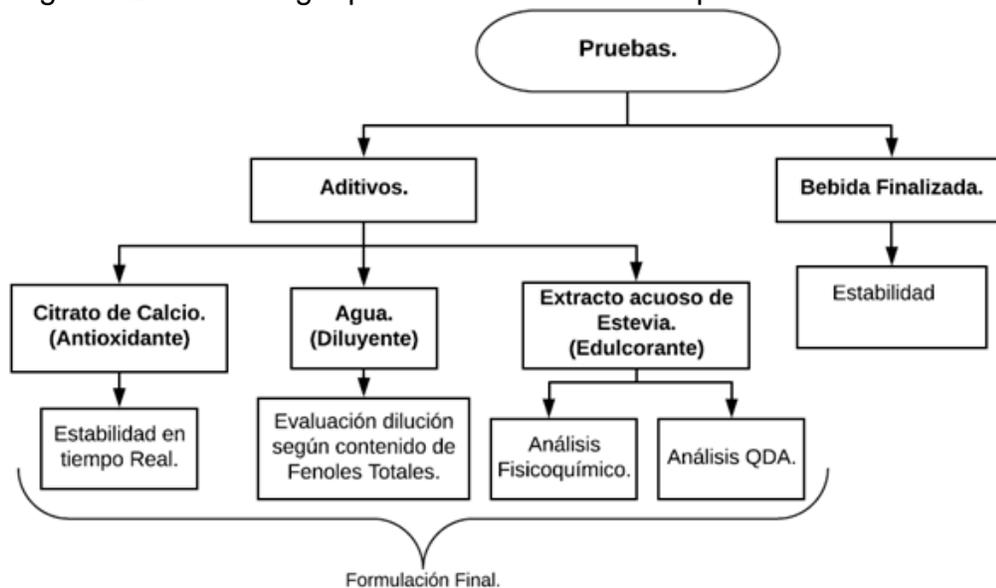
Fuente: elaboración propia.

<sup>44</sup> KARAKALA Balasawy, [Et al.] Production of Low Calorie Ready to Serve Fruit Beverages Using a Natural Sweetener, Stevia (Stevia Rebaudiana L.) [en línea]. En: Focusing on Modern Food Industry (FMSI), 2014, vol. 3, p. 59. [Citado el: 30 de Noviembre de 2018]. Disponible en internet: [https://www.researchgate.net/publication/269805580\\_Production\\_of\\_Low\\_Calorie\\_Ready-to-Serve\\_Fruit\\_Beverages\\_Using\\_a\\_Natural\\_Sweetener\\_Stevia\\_Stevia\\_Rebaudiana\\_L](https://www.researchgate.net/publication/269805580_Production_of_Low_Calorie_Ready-to-Serve_Fruit_Beverages_Using_a_Natural_Sweetener_Stevia_Stevia_Rebaudiana_L).

### 4.3 METODOLOGÍA DE LA FORMULACIÓN

Para la formulación adecuada del hidrolato se hacen necesarias pruebas que justifiquen la elección de cantidades adecuadas de citrato de calcio como conservante, de agua como diluyente o vehículo de la formulación y del extracto acuoso de estevia como agente edulcorante. Se propusieron pruebas fisicoquímicas, de estabilidad y análisis organolépticos a fin de determinar las cantidades y pruebas necesarias para la bebida terminada como se muestra en la Figura 12.

Figura 12. Metodología para el desarrollo de las pruebas.



Fuente: elaboración propia

**4.3.1 Evaluación estabilidad en tiempo Real.** Según la normativa Europea 95/2/CE (por la cual se rige la legislación Colombiana), se clasifica al citrato de calcio con el código E-333 y la dosis máxima está en estado “Quantum Satis” que significa que “no se especifica un nivel numérico máximo y las sustancias se utilizarán de conformidad con la buena práctica de fabricación, en una cantidad no superior a la necesaria para lograr el fin perseguido y a condición de que no se induzca a error al consumidor”<sup>45</sup>

La prueba de estabilidad del hidrolato en presencia de citrato de calcio se llevó a

<sup>45</sup> UNIÓN EUROPEA. Directiva 95/2/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 20 de febrero de 1995. Relativa a aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes. [en línea]. [Citado el: 24 de Noviembre de 2018]. Disponible en internet: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:01995L0002-20101112&from=BG>.

cabo con 500 mL de hidrolato fresco sin dilución. En el proceso de producción actual son añadidos 1500 mg a 1L de hidrolato y se tomó como el valor máximo a analizar, las cantidades menores a evaluar se determinaron teniendo en cuenta la cantidad agregada a bebidas comerciales fortificadas con citrato de calcio cuyo Rango se encuentra entre 240-1600 mg/L <sup>46</sup>.según los valores de la literatura de la tabla 14.

Tabla 14. Bebidas comerciales Fortificadas con Calcio.

Products	Calcium source added	Calcium content (mg/L)	Nutritional claim used on the product label
<b>1. Clear beverages</b>			
Still mineral water	Calcium carbonate / chloride / sulphate	300	Source of calcium
Near water drink	Tricalcium citrate	240	With calcium
Apple juice I	Calcium lactate	800	Calcium enriched
Apple juice II	Calcium lactate gluconate	1200	With calcium
Tangerine orange drink	Tricalcium citrate	368	Plus minerals
<b>2. Cloudy beverages</b>			
Apricot nectar	Calcium lactate	417	With calcium
Tropical nectar	Tricalcium citrate	500	-
Soy milk I	Calcium carbonate	1200	Added calcium
Soy milk II	Calcium citrate, calcium carbonate	1200	With calcium
Fruit Juice	Calcium lactate gluconate	417	Fortified with calcium
Cranberry juice	Calcium lactate gluconate	417	Fortified with calcium
Grapefruit juice	Tricalcium citrate	1458	Plus calcium
Orange/tangerine juice	Tricalcium phosphate, calcium lactate	1458	As much calcium as milk
Orange juice I	FruitCal®	1458	As much calcium as milk
Orange juice II	Tricalcium citrate	276	With added calcium
Orange juice III	Calcium lactate gluconate, tricalcium citrate	1600	Calcium+
<b>3. Instant beverages</b>			
Instant tea drink	Calcium lactate gluconate	1200	With calcium
Beverage powder	Calcium gluconate	ca. 3550	Fast absorbing calcium

**Fuente:** GERSTNER Gerard. How to fortify Beverages with Calcium. En: Food Marketing & Technology.2013

En la tabla 15 se incluye los valores evaluados en las pruebas de estabilidad determinando así la concentración de citrato a usar en la formulación final.

Tabla 15.Cantidad de citrato de calcio en mg añadido a 100 ml de hidrolato.

Muestra	Hidrolato (mL)	Ca <sub>3</sub> (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> ) (mg)	Ca <sub>3</sub> (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> ) (mg/L)
1		150	1500
2		100	1000
3	100	50	500
4		25	250
5		5	50

**Fuente:**elaboración propia

<sup>46</sup> U.S. DEPARTMENT OF HEALTH & HUMAN SERVICES. Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. [en línea]. [Citado el: 24 de noviembre de 2018]. Disponible en internet: [https://ods.od.nih.gov/Health\\_Information/Dietary\\_Reference\\_Intakes.aspx](https://ods.od.nih.gov/Health_Information/Dietary_Reference_Intakes.aspx)

La experimentación inició el día 2 de agosto del 2018 donde posteriormente se almacenaron las muestras en ausencia de luz y temperatura ambiente de 22 °C. Se realizó control visual el día 18 de septiembre y finalizó la experimentación el día 9 de noviembre.

Como método cuantitativo que respaldó la elección más apropiada de la cantidad de Cca, aparte del control visual, se usó el método de conteo de fenoles totales cuantificados en mg de EQ /mL de hidrolato a fin de encontrar una relación entre los fenoles existentes y el poder antioxidante del conservante.

**4.3.2 Evaluación dilución Según Fenoles Totales.** Uno de los factores críticos en la formulación de nutraceuticos es la determinación de la concentración óptima del agente de interés contenido en este.

A diferencia de los micronutrientes obtenidos también de alimentos de origen vegetal como la vitamina E y C, la escasez de flavonoides en la dieta no resulta en un síndrome evidente de deficiencia lo que demuestra el complejo efecto de estas biomoléculas sobre la salud humana. No existe una dosis máxima ni mínima establecida de flavonoides en ninguna legislación del mundo, sin embargo, estudios actuales, que se centran en la ingesta de flavonoles y flavonas, estiman “que los niveles de ingesta deben ser altos para aprovechar las propiedades antioxidantes de las mismas.”<sup>47</sup>

Figura 13. Estimado diario de consumo de flavonoides en la dieta para diferentes países expresados como quercetina.

Flavonoid	Country	mg/day <sup>a</sup>	Main Dietary Sources
<i>Flavonols/flavones</i>			
	Netherlands	23	Tea (48%), onions (29%), apples (7%)
	United States	20–24	Tea (26%), onions (24%), apples (8%)
	United Kingdom (Wales)	26	Tea (82%), onions (10%)
	Finland	4	Apples and onions
	Spain	5	Tea (26%), onions (23%), apples (8%)
	Japan	16	Onions (46%), molokheya (10%), apples (7%), green tea (5%)
<i>Catechins</i>			
	Netherlands	50	Tea (83%), chocolate (6%), apples and pears (6%)
	United States	25	Tea (59%), apples and pears (26%)
<i>Flavanones</i>			
	Finland	20	Orange and grapefruit

**Fuente:** ANDERSEN Oyvind & MARKHAM Kenneth. Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications. 2005. Nueva Zelanda. p.243.

<sup>47</sup> Ibid., p.222.

Según los resultados obtenidos en la caracterización del hidrolato que demuestran una saturación de moléculas presentes en el mismo (que afecta por ende las propiedades organolépticas) ,y con base a las concentraciones de flavonoides presentes en bebidas de supermercados de Estados Unidos y Europa consignados en la figura 13 y la figura14 con el estimado diario de consumo de flavonoides en la dieta para diferentes países expresados como quercetina, se realizaron diluciones justificadas en el valor CFT que se obtuvo mediante el método Folin-Ciocalteu y expresado como quercetina, que según Andersen y Markham <sup>48</sup> consiste en el flavonoide con mayor participación y contribución de antioxidantes en la dieta humana gracias a su presencia en diferentes alimentos.

---

<sup>48</sup> ANDERSEN Oyvind & MARKHAM Kenneth. Op., cit., p. 243.

Figura 14. Contenido de Flavonoides Flavonoles en bebidas comerciales

	Flavonols		
	Qu	K	My
Apple juice	1.1 <sup>a</sup> (0.1–2.9) <sup>b</sup>	—	—
Black current juice fresh	1.6 (0.7–2.5)	C	2.1 (2.1–3.2)
Cacao drink	C	—	—
Chocolate milk	0.1	Tr	Tr
Coffee	Tr	—	Tr
Cranberry juice, canned	1.2	—	2.9
Cranberry juice, fresh	17.5	—	4.7
Grape juice, black	0.5 (0.4–0.5)	—	0.6
Grape juice, white	0.5 (0.4–0.5)	—	0.6
Grapefruit juice	0.3 (0.1–0.5)	C	—
Lemon juice	1.1	—	Tr
Lime juice	—	—	—
Orange juice (diluting)	0.6	—	—
Orange juice (fresh)	0.5 (0.1–1.0)	—	—
Tomato juice	1.5 (1.3–1.6)	0.1	—
Tea, black	2.1 (Tr–3.5)	1.5 (1.1–1.6)	0.3 (0.2–0.4)
Tea, decaffeinated	5.2	2.4	0.1
Tea, Earl Grey	1.7	1.7	0.3
Tea, green	2.1	1.3	0.8
Tea, Forest fruit	C	C	C
Tea, freeze dried	5.7	3.4	Tr
Tea, Oolong	1.3	0.9	0.5
Beer	0.1 (Tr–0.1)	0.8 (Tr–1.6)	—
Cider	C	C	—
Sherry	C	C	C
Wine, red	0.9 (0.4–1.3)	0.1 (Tr–0.1)	0.6 (Tr–0.6)
Wine, rose	N	N	N
Wine, white	0.1 (Tr–0.2)	—	Tr

<sup>a</sup>Aglycone mg/100 g fresh weight.

<sup>b</sup>Minimum to maximum values included in database (values given in parentheses).

Tr, below limit of detection; C, not quantified; N, known to be present

**Fuente:** ANDERSEN Oyvind & MARKHAM Kenneth. Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications. 2005. Nueva Zelanda. p.243.

Se inició la dilución con agua purificada por el método EcoSmarte®, el mismo usado en el proceso en planta para la destilación por arrastre de vapor y obtención de agua de rosas. El agua es almacenada a la sombra en envase PET. Se propusieron las diluciones con base 100 ml consignados en la tabla 16.

Tabla 16. Diluciones del hidrolato evaluadas.

Dilución	Composición.
1:3	25 ml Hidrolato 75 ml Agua
2:3	40 ml Hidrolato 60 ml Agua
1:1	50 ml Hidrolato. 50 ml Agua.
3:2	60 ml Hidrolato. 40 ml Agua
3:1	75 ml Hidrolato 25 ml Agua

Fuente: elaboración propia

En la ilustración 16, se observa el cambio de coloración de las 5 diluciones respecto al patrón, incidiendo el contenido de agua de manera proporcional a no sólo la variación de la tonalidad de marrón oscuro a amarillo claro sino en adición a la disminución de la turbidez y presencia visual de partículas en suspensión.

Ilustración 16. Diluciones propuestas para el hidrolato de Rosas



Fuente: elaboración propia

Con base en el perfil organoléptico obtenido del hidrolato puro por el método QDA descrito en el numeral 2.2.4 se realizó la calificación descriptiva de color, olor y

sabor para cada una de las diluciones, en esta ocasión por sólo dos panelistas tipo consumidor.

**4.3.3 Evaluación fisicoquímica y organoléptica del Extracto Acuoso de Estevia.** El extracto de estevia preparado para adicionar como edulcorante a la bebida fue caracterizado por los laboratorios de Tecmol farmacéutica S.A.S a fin de comparar las propiedades fisicoquímicas del presente con las reportadas por Karala<sup>49</sup> en su estudio, permitiendo así la extrapolación de los porcentajes de 1.5, 2 y 2.5% de estevia para endulzar la bebida tipo té.

Los porcentajes anteriormente expuestos fueron evaluados en literatura originalmente en bebidas listas para servir a base de frutas.

La tabla 17 Muestra los valores de °Brix, pH y % de Acidez obtenidos para el extracto acuoso de estevia en el estudio de Karakala.

Tabla 17. Caracterización fisicoquímica del extracto acuoso de Estevia.

Sample	°Brix	pH	Acidity (%)
Stevia aqueous extract	4.93 ± 0.12	4.99 ± 0.13	0.15 ± 0.01

**Fuente:** KARAKALA Balasawy, [Et al.] Production of Low Calorie Ready to Serve Fruit Beverages Using a Natural Sweetener, Stevia (*Stevia Rebaudiana* L.) [En línea]. En: Focusing on Modern Food Industry (FMSI), 2014, vol. 3, p. 59. [Citado el: 30 de noviembre de 2018.].

Para la definición del porcentaje exacto de edulcorante a usar en la formulación final de la bebida se realizaron pruebas de evaluación sensorial base escala JAR (“Just About Right”) la que se muestra en la Ilustración 17.

Ilustración 17. Escala JAR.

Demasiado bajo en dulce para mi gusto.	Algo bajo en Dulce para mi gusto.	Justo como me gusta	Algo Dulce para mi Gusto	Demasiado dulce para mi gusto
--	-----------------------------------	---------------------	--------------------------	-------------------------------

**Fuente:** elaboración propia

Para esta tercera prueba de evaluación cualitativa, respecto a la calificación de un panel tipo consumidor de 10 personas, con un rango de edad entre 18-59 años se obtuvo la cantidad idónea de endulzante a usar entre las tres muestras estudiadas de 1,5, 2 y 2,5%, concentraciones seleccionadas según literatura.

<sup>49</sup> KARAKALA Balasawy, [Et al.] Op., cit., p. 243.

**4.3.4 Bebida nutracéutica Final.** Formulada finalmente la bebida tipo té respecto a la adición de edulcorante, conservante y agua como agente diluyente, se procede a realizar un estudio de estabilidad en tiempo real evaluando las variaciones de las propiedades fisicoquímicas, específicamente pH °Brix y % Acidez, y microbiológicas del producto en función del tiempo, un mes concretamente.

Las pruebas físicas fueron realizadas por el laboratorio farmacéutico TECMOL S.A.S, por su parte los análisis microbiológicos se ejecutaron en los laboratorios de AQUALITY LAB S.A.S siguiendo las instrucciones de la resolución 3929 de 2013 del ministerio de Salud y protección social por la cual se establece el reglamento técnico y requisitos que deben cumplir las bebidas con adición de zumo en Colombia. Si bien la resolución anterior aplica para jugos y bebidas derivadas de frutas, se siguió esta legislación debido al carácter de derivado natural del hidrolato y que una legislación específica para materia prima vegetal no está establecida.

#### **4.4 RESULTADOS FORMULACIÓN DE LA BEBIDA NUTRACÉUTICA**

Con base en los resultados obtenidos en la caracterización físico- química del hidrolato y sus componentes, específicamente el CFT, se procede a desarrollar la experimentación correspondiente para la formulación de la bebida definida Tipo té o “bebida Clara”.

Comercialmente se encontraron bebidas funcionales “claras” que sugieren alto contenido de antioxidantes en sus etiquetas como NAOX , BE+ Y LIXIR todas elaboradas a partir de extracto de mucílago de café , donde a diferencia de la rosa, su contenido de quercetina es menor pero destaca la presencia del flavanol catequina entre un rango de 67-73.3 mg Equivalentes de Catequina / 100 mL<sup>50</sup> . La bebida LIXIR por su parte declara reemplazar de 1-2 porciones de fruta en su contenido antioxidante.

Para el caso específico de suplementos nutricionales con contenido de quercetina se encuentran en el mercado cápsulas entre 400-800 mg de quercetina dihidratada aislada por cada porción que supera el estimado de consumo diario de la figura 15; por ejemplo, en comparación con el Reino Unido el consumo es sólo

---

<sup>50</sup> CORTEZ Shirley. Et al. Determinación de antioxidantes en subproductos de café producido y comercializado en Risaralda [en línea]. . Universidad tecnológica de Pereira, Colombia. [Citado el: 10 de enero de 2019]. Disponible en internet: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/7597/63373C828.pdf?sequence>.

de 26 mg/día mientras que para países orientales, donde el consumo de productos de origen vegetal es alto, como Japón es de 65 mg base quercetina<sup>51</sup>. El nombre comercial de los suplementos en forma de cápsula analizados fueron quercetin Complex de Solgar, Quercetin with Bromelian de Nutricost y Quercetin de Jarrow Formulas cuyo costo excede los \$ 100,000 COP (100-250 cápsulas).

**4.4.1 Resultados para la estabilidad del citrato de calcio en tiempo real.** Las pruebas de estabilidad fueron un factor decisivo para determinar, en este caso, la vida útil del concentrado de rosas en condiciones de almacenamiento normales; adicionalmente a partir de estas se obtuvo la cantidad de Cca (extrapolable a la formulación de la bebida) que garantizó los mejores resultados antioxidantes respecto al contenido original de fenoles totales. Las condiciones de estudio de estabilidad se resumen en la figura 3.

Cuadro 3. Condiciones de Estudio para la estabilidad del Citrato de Calcio

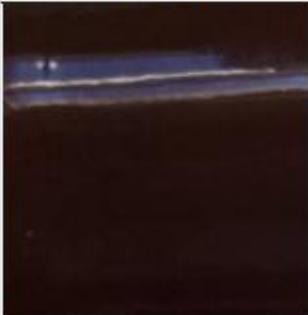
<b>Condiciones del Estudio</b>		
<b>Nombre.</b>	Concentrado de Rosas con adición de Citrato de calcio	
<b>Temperatura de Almacenamiento</b>	17 °C.	
<b>Condiciones de Almacenamiento.</b>	Lugar seco, a la sombra.	
<b>Volumen de las muestras.</b>	10mL	
<b>Material de Envase.</b>	Vidrio.	
<b>Controles Estimados.</b>	3	
<b>Tiempo Proyectado.</b>	16 Semanas.	
<b>Fecha de Inicio.</b>	2 de Agosto de 2018	
<b>Fecha de Control.</b>	20 de Septiembre de 2018.	
<b>Fecha final.</b>	22 de Noviembre de 2018.	
<b>Características a Evaluar.</b>	<b>Física.</b>	Análisis color y Olor.
	<b>Química.</b>	CFT método Folin–Ciocalteu
	<b>Biológica.</b>	Observación.

Fuente: elaboración propia

Se obtiene los resultados bajo los parámetros de estudio anteriores de la figura 15 a la 19.

<sup>51</sup> ANDERSEN Oyvind & MARKHAM Kenneth. Op., cit., p. 243.

Figura 15. Estabilidad muestra Citrato de Calcio 0.05 mg /mL.

5 mg de Citrato de Calcio/ 100 mL		
Apariencia física.		
Semana 0.	Semana 7.	Semana 16.
		
		
Descripción/Comentarios.		
Bebida café-rojiza. Olor resinoso- Dulce. Apariencia turbia característica del concentrado de rosas. No hay presencia visual de hongos.	Leve disminución de la tonalidad Café. Olor Característico resinoso del hidrolato. Crecimiento de Moho <i>Penicillium</i> común en superficies orgánicas húmedas.	Reducción del color característico, de Café a Color ámbar. Olor penetrante fermentado. Presencia de hongos y precipitado.
Contenido Total de Fenoles mg EQ/mL.		
0.889	ND	0.409

Fuente: elaboración propia

Figura 16. Estabilidad muestra citrato de Calcio 0.25 mg/mL.

25 mg de Citrato de Calcio/ 100 ml.		
Apariencia física.		
Semana 0.	Semana 7.	Semana 16.
		
		
Descripción/Comentarios.		
Bebida café-rojiza. Olor resinoso- Dulce. Apariencia turbia característica del concentrado de rosas. No hay presencia visual de hongos.	Tonalidad café rojiza. Olor levemente fermentado. Crecimiento de capa flotante mucilaginosa similar al hongo de té o SCOBY (cultivo simbiótico de bacterias y levaduras).	Color ámbar. Olor fuertemente acre - fermentado similar al vinagre. El hongo de té aumentó su grosor y aspecto mucilaginoso.
Contenido Total de Fenoles mg EQ/mL.		
0.889	ND	0.552

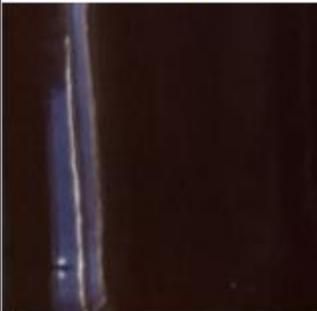
Fuente: elaboración propia

Figura 17. Estabilidad muestra citrato de Calcio 0.5 mg/mL.

50 mg de Citrato de Calcio/ 100 mL		
Apariencia física.		
Semana 0.	Semana 7.	Semana 16.
		
		
Descripción/Comentarios.		
Bebida café-rojiza. Olor resinoso- Dulce. Apariencia turbia característica del concentrado de rosas. No hay presencia visual de hongos.	Color y olor característico del hidrolato . No se observa presencia de hongos ni suspensiones viscosas.	Ligera reducción de la tonalidad café característica del hidrolato. Olor Acre-Fermentado. Presencia de suspensiones viscosas de color blanco.
Contenido Total de Fenoles mg EQ/mL		
0.889	ND	0.589

Fuente: elaboración propia

Figura 18. Estabilidad muestra citrato de Calcio 1 mg/mL.

100 mg de Citrato de Calcio/ 100 mL		
Apariencia física.		
Semana 0.	Semana 7.	Semana 16.
	SF	
		
Descripción/Comentarios.		
Bebida café-rojiza. Olor resinoso- Dulce. Apariencia turbia característica del concentrado de rosas. No hay presencia visual de hongos.	Color y olor característico del hidrolato . No se observa presencia de hongos ni suspensiones viscosas.	Color característico del hidrolato . Olor ligeramente fermentado. Presencia de sustancias viscosas y precipitado de tonalidad blanca (Residuos de Citrato)
Contenido Total de Fenoles mg EQ/mL		
0.889	ND	0.598

Fuente: elaboración propia

Figura 19. Estabilidad muestra citrato de Calcio 1.5 mg/mL.

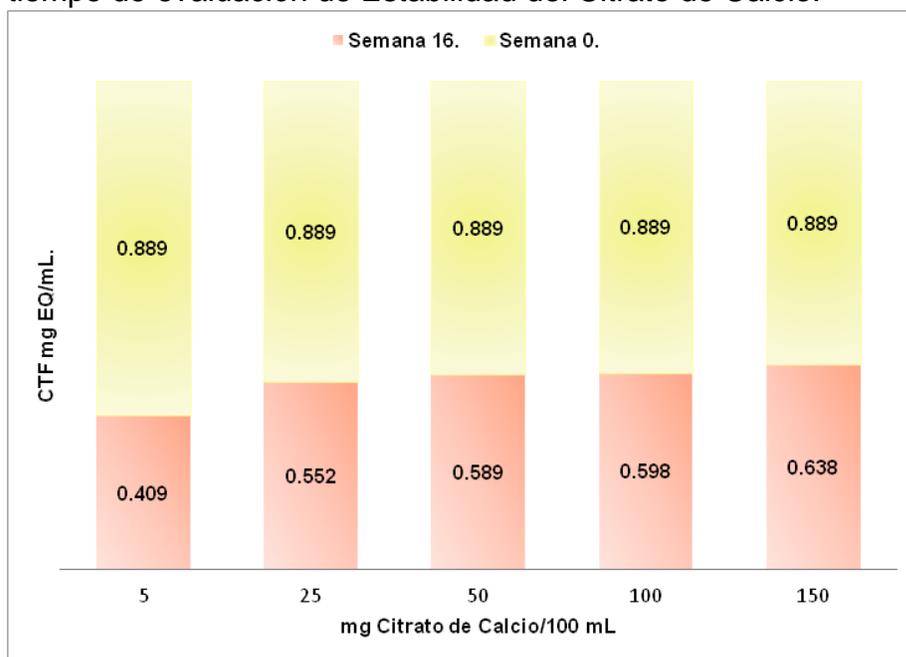
150 mg de Citrato de Calcio.		
Apariencia física.		
Semana 0.	Semana 7.	Semana 16.
	SF	
		
Descripción/Comentarios.		
Bebida café-rojiza. Olor resinoso- Dulce. Apariencia turbia característica del concentrado de rosas. No hay presencia visual de hongos.	Color y olor característico del hidrolato . No se observa presencia de hongos ni suspensiones viscosas.	Color característico del hidrolato . Olor ligeramente fermentado. No se observan suspensiones viscosas. Presencia de precipitado.
Contenido Total de Fenoles : mg EQ/mL		
0.889	ND	0.638

Fuente: elaboración propia

Los resultados que se obtienen de la prueba de estabilidad concluyen que el poder antioxidante del citrato de calcio tiene un efecto biológico y químico importante. Si bien este citrato es usado como conservante antioxidante y no antimicrobial su presencia en altas concentraciones evitó el crecimiento de hongos de gran tamaño deduciéndose un comportamiento inverso entre la cantidad de aditivo usado y la actividad biológica visualmente perceptible.

Para mantener las condiciones fisicoquímicas y biológicas del hidrolato durante 7 semanas se recomienda el uso de concentraciones de citrato de calcio mayores a 0.5 mg/mL, esto en almacenamiento a temperatura ambiente y exposición al aire lo cual es erróneo para el almacenamiento de esta bebida en particular pues se hace necesaria su refrigeración una vez abierto el producto, por ende, se añade que el estudio presente se hizo bajo condiciones extremas de almacenamiento.

Gráfica 8. Comparación CTF para las muestras durante el tiempo de evaluación de Estabilidad del Citrato de Calcio.



La estabilidad química antioxidante del hidrolato se evaluó por medio del contenido total de fenoles con base en quercetina para las muestras arrojando los resultados de la Gráfica 8. Mientras que para una concentración de 5 mg/ 100 ml de Citrato de Calcio se conservó sólo el 46% de los flavonoides Totales para las concentraciones subsecuentes se mantuvo del 62-71% de las moléculas polifenólicas totales inicialmente calculadas demostrando la efectiva actividad retardadora de descomposición del citrato de calcio.

Los flavonoides son sustancias altamente sensibles a factores como la luz, el aire y el tiempo que aceleran su oxidación, aunque suena extraño, al ser moléculas fácilmente oxidables tienen efecto antioxidante muy rápido. El uso de Citrato evidenció que se protegió el contenido de fenoles presentes en la bebida retardando la oxidación de los flavonoides hasta ser consumidos. Si bien el parámetro químico arrojó resultados satisfactorios de conservación para concentraciones entre 25 y 150 mg/100 ml, la observación de cambios físicos y biológicos previamente evaluados deben tenerse en cuenta al igual que el costo económico del antioxidante en el valor final del producto. Para las concentraciones de 100 y 150 mg de Cca/100 mL de hidrolato, que fueron las que mayor poder antioxidante se presentó una diferencia de CFT entre las mismas de 0.04 mg EQ/ml valor que no representa una diferencia de poder antioxidante significativa pero que si un costo económico y de aditivo importante, por ende, se decide que la concentración de 100 mg de Citrato de Calcio / 100 mL es la adecuada y suficiente para la formulación de la bebida funcional.

Adicionalmente la concentración de 1 mg/mL mejora la composición nutricional de minerales, esto al compararse con las concentraciones de calcio de la tabla 14, del numeral 4.3.1. del presente capítulo, para bebidas comerciales Fortificadas. Así, paralelamente con el jugo de uva, el néctar de fruta y el agua saborizada con concentración 1.4, 0.5 y .0.24 mg/mL de citrato de calcio, la bebida a formular hace parte del grupo de bebidas funcionales enriquecidas con calcio.

**4.4.2 Evaluación dilución del concentrado de Hidrolato Según Fenoles Totales y Análisis organoléptico.** Para determinar la cantidad de diluyente o vehículo a usar en la formulación final de la bebida se procedió con el desarrollo de una prueba sensorial con dos jurados en base al perfil organoléptico del concentrado de hidrolato obtenido en el numeral 3.1.4 del anterior capítulo y resumido en el cuadro 4.

Cuadro 4. Perfil organoléptico del hidrolato concentrado.

Sustancia		Concentrado de Hidrolato de Rosas.
Tonalidad	Principal	Café
	Secundario	Rojo
Sabor	Principal	Amargo
	Residual	Astringente
Olor	Principal	Resinoso
	Secundario	floral & dulce.

Fuente: elaboración propia

La escala numérica de intensidad para la calificación del sabor y olor fue la misma usada en la evaluación organoléptica previa, donde 0 indica ausencia hasta 3 que señala sensación extrema del aroma y gusto evaluado. Los resultados para la dilución se sintetizan en la cuadro 5.

La dilución se realizó con base el hidrolato concentrado con contenido de 1mg/ mL de citrato de calcio a fin de reducir el error en la valoración de las propiedades organolépticas. La relación de las diluciones se expresa como agua: hidrolato.

Cuadro 5. Resultados CTF y Organoléptico de las diluciones propuestas.

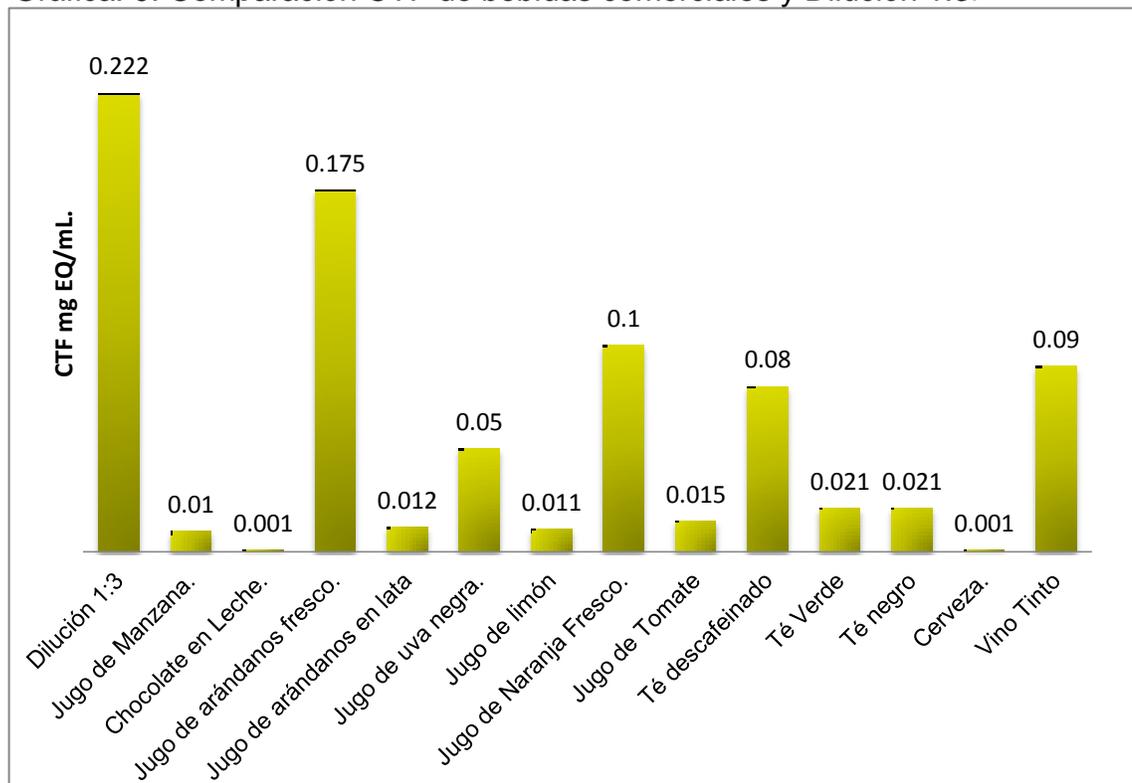
DILUCIÓN	1:3	2:3	1:1	3:2	3:1
<b>SABOR</b>					
<b>AMARGO</b>		2	2	2	3
<b>ASTRINGENTE</b>		0	1	1	2
<b>OLOR</b>					
<b>RESINOSO</b>		1	1	2	3
<b>FLORAL</b>		1	2	1	1
<b>DULCE</b>		2	3	2	1
<b>COMENTARIOS GENERALES.</b>	Bebida agradable al consumo, con nulo residuo seco en boca y olor en general muy ligero.	Agradable al consumo, sabor similar al del té sin azúcar, sabor residual ligeramente seco pero no molesto. El olor dulce se destaca	Disminuye la sensación de sequedad en la boca, se percibe un olor dulce similar al de la miel.	Sigue siendo un sabor a té concentrado, más agradable al ser consumido (no produce gesto); el olor disminuye en intensidad	Sabor fuerte y seco, produce gesto su consumo, similar al sabor del patrón. Olor altamente aromático resinoso.
<b>COLOR</b>					
<b>DESCRIPCIÓN.</b>					
	Ambár.	Ambar-Rojo	Rojo-Café	Café	Café-Rojo
<b>CONTENIDO FENOLES TOTALES mg EQ/ mL</b>					
	0.889	0.222	0.356	0.444	0.533
					0.667

Fuente: elaboración propia

Organolépticamente la dilución con el perfil mejor valorado fue la dilución 1:3 (75 mL de agua- 25 mL de hidrolato) específicamente porque el sabor secundario astringente o residuo seco característico del concentrado no se percibió más en comparación con las otras muestras.

Sin embargo, el parámetro decisivo fue la concentración de fenoles con base en quercetina de cada dilución. En comparación con los valores de flavonoides registrados para bebidas comerciales en la figura 14 del capítulo 4.3, la dilución 1:3 posee 22.2 mg de quercetina por cada 100 mL del hidrolato diluido, valor que supera incluso el contenido de quercetina para bebidas como el jugo de arándanos fresco, el té, el vino rojo y otras bebidas como se resalta en la Gráfica 9.

Gráfica. 9. Comparación CTF de bebidas comerciales y Dilución 1:3.



**Fuente:** ANDERSEN Oyvind & MARKHAM Kenneth. Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications. 2005. Nueva Zelanda. p.243.

En comparación con las otras bebidas evaluadas, la dilución 1:3 se presenta como un excelente prospecto para la formulación del nutraceutico tipo té final por su contenido de fenoles y su caracterización organoléptica.

**4.4.3 Evaluación extracto acuoso de estevia como edulcorante.** El extracto acuoso de estevia elaborado bajo la metodología ya descrita posee propiedades similares a las caracterizadas por Karala en su estudio y consignadas en la Tabla 18 de la sección 4.3.3 del presente capítulo. Las propiedades obtenidas de la Tabla 17 y anexadas también en el apartado G, justifican la extrapolación de las concentraciones de 1.5%,2% y 2.5% del extracto elaborado para su evaluación por medio de la escala JAR; así por ejemplo la medida de °Brix para el edulcorante obtenido difiere en 0.12 del citado; recordando que esta es una medida de azucars o carbohidratos disueltos en un líquido el poder “endulzante” del extracto de estevia elaborado es igual al descrito en la literatura.

Tabla 18. Resultados para la caracterización del EAE.

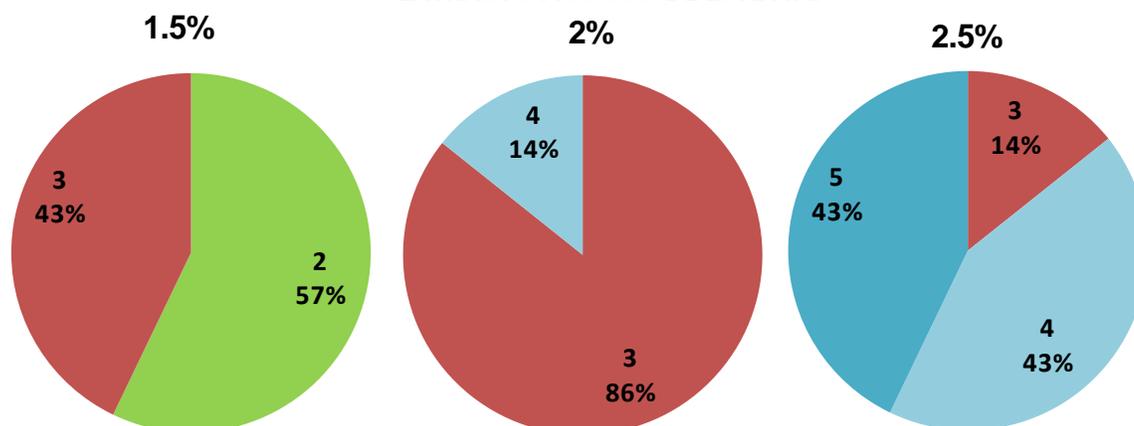
ANÁLISIS	RESULTADOS	UNIDADES.	MIN.	MAX.	MÉTODO.
°Brix	4.81	°Bx	No aplica		Refractometría 20°C
pH	5.02		No aplica		
Acidez	0.2	% Ácido cítrico.	No aplica		Acidez titulable.

El análisis cualitativo descriptivo por medio de la escala JAR la cual se “utiliza ampliamente en el desarrollo de nuevos productos como técnica de investigación de consumidores, se emplea para identificar si los atributos presentes en el alimento están bien optimizados o si, por el contrario, necesitan subir o bajar de intensidad”<sup>52</sup> Mediante el formato del Anexo H aplicado para 10 personas se seleccionó el porcentaje de endulzante a usar entre los seleccionados previamente

Gráfica. 10. Resultados de la evaluación de intensidad de dulce escala JAR

Demasiado bajo en dulce para mi gusto.	Algo bajo en Dulce para mi gusto.	Justo como me gusta	Algo Dulce para mi Gusto	Demasiado dulce para mi gusto
1	2	3	4	5

**EXTRACTO ACUOSO DE ESTEVIA.**



Fuente: elaboración propia

<sup>52</sup> FERNÁNDEZ Isabel et al. Aplicación de las escalas de punto ideal o Just-About-Right (JAR) en análisis sensorial de alimentos [en línea]. [Consultado en: 10 de enero de 2019]. Disponible en internet:

<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/104054/Fern%C3%A1ndez%3BGarc%C3%ADa%3BFuentes%20%20Aplicaci%C3%B3n%20de%20las%20escalas%20de%20punto%20ideal%20o%20JustAboutRight%20%28JAR%29%20en%20a....pdf?sequence=1>

Según los resultados anexados en la Gráfica 10 la bebida con mayor aceptación dentro del jurado respecto a la intensidad de dulce fue la bebida con contenido 2% de estevia sobre el volumen total, donde el nivel 3 referente a la expresión “justo como me gusta” logro el 86% de aprobación.

**4.4.4 Formulación final de la bebida nutracéutica-funcional.** De acuerdo con las pruebas ya desarrolladas para la determinación de la proporción más conveniente de cada aditivo teniendo en cuenta características fisicoquímicas y organolépticas se obtuvo la formulación final registrada en la tabla 19. Los datos adjuntos se calcularon para una bebida personal o individual de 300 mL.

Tabla 19. Formulación final de la bebida nutracéutica tipo té.

<b>FORMULACIÓN FINAL DE LA BEBIDA NUTRACÉUTICA.</b>		
<b>Materia prima</b>	<b>Cantidad.</b>	<b>Densidad kg/L</b>
<b>Citrato de calcio.</b>	300 mg	1.63
<b>Extracto acuoso de estevia 4.8-5° Brix.</b>	6 mL	1.01
<b>Concentrado de hidrolato de rosas</b>	75 MI	1.0
<b>Agua (hasta completar 300 mL)</b>	219 MI	1

**Fuente:** elaboración propia

Los volúmenes de presentación de las bebidas están definidos en el mercado; así por ejemplo los volúmenes destinados a presentaciones personales de bebidas incluyen valores entre los 200-600 mL mientras que las presentaciones tipo familiar sobrepasan el volumen de 1L. Revisando las bebidas actuales a base de frutas y extractos naturales como el té se reafirma la información anterior, por consecuente se selecciona la presentación final de 300 mL como el volumen disponible para la venta al público. Este volumen equivale a un vaso diario del hidrolato que aporta 66.6 mg del flavonoide quercetina que supera el promedio de consumo diario de flavonoles-flavonas para diferentes países expresados como quercetina de la figura 13, del apartado 4.3 del presente capítulo, que se encuentra entre 5-65 mg/día convirtiéndose en reemplazo incluso de las fuentes más comunes de este flavonoide en la dieta dentro de las que se incluyen algunas frutas y verduras como las manzanas y las cebollas.

**Estabilidad final del producto.** La estabilidad biológica y fisicoquímica de la bebida formulada como se indica en la tabla 20 se ejecutó para un tiempo de 1 mes. El control fisicoquímico fue realizado por los laboratorios de TECMOL Farmacéutica S.A.S con control las semanas 1, 2 y 4; según la resolución 3929 de

2013 del ministerio de Salud y protección social, por la cual se establece el reglamento técnico y requisitos que deben cumplir las bebidas con adición de zumo en Colombia, las características fisicoquímicas requisito a evaluar son los °Brix y % de acidez; para la bebida nutracéutica se realizó adicionalmente la medición del pH teniendo en cuenta que a un pH ácido se evita la proliferación de microorganismo patógenos por ende la supervisión de este factor es clave en la estabilidad del producto.

El laboratorio realizó 3 pruebas de control para las muestras entregadas correspondientes a la bebida nutracéutica preparada en diferentes fechas las que se especifican en el informe del anexo I. La variación de las propiedades fisicoquímicas durante un mes se registra en la tabla 20 al igual que el método y las condiciones usadas para la determinación de las mismas; se recuerda que los métodos usados corresponden a los demandados en la resolución previamente enunciada.

Tabla 20. propiedades fisicoquímicas de la bebida final en 1 mes de evaluación.

ANALISIS	RESULTADOS			UNIDADES.	MÉTODO.
	Semana 1	Semana 2	Semana 3		
*Brix	3	3.2	3.2	*Bx	Refractometría 20°C
pH	5	5	5.02		
Acidez	0.22	0.22	0.2	% Ácido cítrico.	Acidez titulable.

Respecto a los parámetros evaluados en la estabilidad fisicoquímica para la formulación final de la bebida propuesta en 1 mes de evaluación no se encontró una variación importante que indique deterioramiento de la bebida, por ende, se puede asegurar que la bebida posee más de un mes de vida útil y se recomienda el estudio de las mismas propiedades para 180 días, correspondientes a cuatro meses, que se especifica en la legislación como el tiempo de vida útil máximo autorizado para bebida de origen natural.

El análisis microbiológico realizado por los laboratorios de AQUALITY LAB S.A.S especifica el método y el resultado obtenido para los requisitos demandados por el ministerio de Salud y protección social en la resolución 3929 de 2013<sup>53</sup>; si bien

<sup>53</sup> COLOMBIA MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL. Decreto Número 3929 de 2013: Por la cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos sanitarios que deben cumplir las frutas y las bebidas con adición de jugo (zumo) o pulpa de fruta o concentrados de fruta, clarificados o no, o la mezcla de estos que se procesen. [Consultado en: 02 de marzo de 2019]. Disponible en internet: <https://www.invima.gov.co/images/pdf/intranet/Dir%20operaciones/RESOLUCI%C3%93N%203929%20DE%202013.pdf>

bajo esta normativa, como se enunció anteriormente, se rige la producción de bebidas a partir de zumos y pulpas de frutas se decidió en el presente proyecto seguirla debido al origen natural de las materias primas y de la bebida diseñada, adicionalmente a la inexistencia de normas específicas que rijan la producción de bebidas a partir de otros extractos naturales diferente a las frutas. En la tabla 21 se precisa para cada producto (detallando la ejecución de procesos físicos o térmicos) el requisito microbiológico a evaluar, el número de unidades o muestras a examinar (n), el índice máximo permisible para un nivel de buena calidad (m), el índice máximo permisible para un nivel aceptable calidad (M) y el número máximo de muestras permisibles con resultado entre m y M (c).

Tabla 21. Requisitos legales microbiológicos para bebidas fabricadas a partir de frutas.

Producto	Requisito	Parámetro			
		n	m	M	c
Jugos (zumos) sin tratamiento térmico congelados o no	Recuento E. Coli ufc/g o ml	5	< 10	-	0
	Recuento de mohos y levaduras ufc /g o ml	5	1.000	3.000	2
	Detección de Salmonella/ 25 grs	5	Ausencia	-	0
Jugos (zumos) pasteurizados, edulcorados o no	Recuento de microorganismos mesófilos ufc /g o ml	5	1.000	3.000	1
	Recuento E. Coli ufc/ g o ml	5	< 10	-	0
	Recuento de mohos y levaduras ufc/g o ml	5	100	200	1
Jugos (zumos) sometidos a proceso de esterilidad comercial	Microorganismos aerobios y anaerobios	5	Prueba de esterilidad comercial: no debe presentar crecimiento bacteriano		

**Fuente:** Ministerio de Salud y Protección Social. Decreto Número 3929 de 2013: Por la cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos sanitarios que deben cumplir las frutas y las bebidas con adición de jugo (zumo) o pulpa de fruta o concentrados de fruta, clarificados o no, o la mezcla de estos que se procesen, empaquen, transporten, importen y comercialicen en el territorio nacional.

La bebida nutracéutica diseñada no fue sometida a ningún tipo de tratamiento que mejorara su estabilidad (clarificado) ni a ningún procedimiento térmico que redujera la actividad biológica tal como la pasteurización, que de hecho se sugiere su análisis en las recomendaciones del presente trabajo; el método usado para extender la vida útil de la bebida en un tiempo mayor fue la adición del antioxidante-conservante citrato de calcio y su dilución por medio de la agitación continua; por lo anterior y teniendo en cuenta los requisitos legales microbiológicos establecidos en la legislación Colombiana de la tabla 21 el análisis microbiológico

efectuado incluyo el recuento de E. coli y otros microorganismos coliformes , mohos, levaduras y microorganismos mesófilos como se muestra en la tabla 22.

Tabla 22. Análisis microbiológico de la bebida final para un mes de almacenamiento realizado por AQUALITY LAB S.A.S.

ANALISIS	RESULTADO	UNIDADES	ESPECIFICACIONES	METODO
Recuento Aerobios Mesofilos	<10	UFC/g	100 UFC/g	Siembra en Profundidad
NMP Coliformes Totales	<3	NMP/g	<3 NMP/g	Numero Mas Probable
Recuento E. coli	<10	UFC/g	<10 UFC/g	Identificación Bioquímica
Recuento Mohos	<10	UFC/g	<10 UFC/g	Siembra en Profundidad
Recuento Levaduras	<10	UFC/g	<10 UFC/g	Siembra en Profundidad

Para la bebida nutracéutica diseñada se obtuvieron los resultados de la tabla 22, de acuerdo a la legislación para jugos (zumos) sin tratamiento térmico de la tabla 28 se cumplen con todos los límites máximos para calificar la estabilidad biológica de la bebida durante un mes de evaluación como de buena calidad, los resultados completos se consignan en el anexo J.

Si bien para nutracéuticos el INVIMA no establece una vida útil mayor de 2 años en la expedición de su registro, el tratamiento y diseño de esta bebida se basó en la normativa que regula la producción de bebidas con adición de frutas, es decir la resolución 3929 del 02 de octubre de 2013 que establece una vida útil permitida no mayor de 180 días para productos sometidos a tratamiento físico, sean envasados en caliente, en envase hermético, con necesidad o no de refrigeración.

#### 4.5 ETIQUETADO Y ENVASADO

La industria de alimentos y bebidas a nivel mundial se ha convertido en una de las más demandantes y dinámicas. Hoy en día no sólo se logra triunfar en el mercado con un buen producto, sino además un empaque y una etiqueta bien diseñados pueden marcar la diferencia.

En la figura 20 se enuncian los beneficios y desventajas de los materiales más usados en empaques comerciales dentro de la industria de alimentos, específicamente las bebidas, como lo son el vidrio, el aluminio y el PET.

Figura 20. Comparación entre los materiales usados en la fabricación de envase.

TIPO DE ENVASE	BENEFICIOS	DEBILIDADES
<b>Vidrio.</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inertes, no interfieren en el sabor de alimentos ni bebidas incluso a altas temperaturas, inodoro.</li> <li>• Resistente a presiones internas de hasta 100 kg/cm<sup>2</sup></li> <li>• Reutilizable y reciclable.</li> <li>• Como envase hermético puede cerrarse y volverse abrir.</li> <li>• Material de referencia para la estabilidad en comestibles y bebidas (alarga la vida útil).</li> <li>• Usado en el mercado como envase de bebidas naturales como el té.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• No tiene buena resistencia al impacto.</li> <li>• Presenta elevado costo de adquisición en comparación con otros empaques.</li> <li>• Elevado peso de envase.</li> <li>• En la presentación transparente permite el paso de radiación.</li> </ul>
<b>Aluminio /Multicapas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ofrecen excelente barrera contra el oxígeno, la humedad y la luz ultravioleta.</li> <li>• Ofrece estabilidad al producto.</li> <li>• Ligeros, resistentes y fáciles de transportar.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• El envasado debe hacerse con maquinaria específica.</li> <li>• El reciclaje de los empaques multicapas es costoso.</li> </ul>
<b>PET.</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Poseen baja densidad, son muy flexibles pues soportan grandes esfuerzos sin fractura.</li> <li>• Poseen baja conductividad térmica.</li> <li>• Resistentes a la corrosión condiciones de humedad altas, ácidos orgánicos débiles y a soluciones salinas.</li> <li>• Dependiendo de la densidad y gramaje puede soportar presiones internas altas sin sufrir deformación.</li> <li>• Presenta un bajo costo de adquisición.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Elevado costo de reciclaje.</li> <li>• A condiciones extremas de temperatura y presión reaccionan y transfieren moléculas al producto que contienen.</li> <li>• Causantes de graves problemas medioambientales.</li> </ul>

**Fuente:** ARDILA Alejandra y CORDERO Jennifer. Desarrollo de bebidas energéticas con extractos naturales. Trabajo de Grado de Ingeniería Química. Fundación Universidad de América. 2016 Citado en: 28 de enero de 2019. p; 99.

La elección del envase está estrechamente relacionada con las características fisicoquímicas del producto a conservar. Revisando la presentación de bebidas similares a la diseñada aquí, ya existentes en el mercado, se encontró en su mayoría un envase de vidrio; estos empaques se caracterizan por la no interacción química con su contenido, por conservar e incluso alargar la vida útil de un producto lo cual es una ventaja clara e importante para un alimento de origen natural como el diseñado y otros beneficios enunciados en la figura 20.

Se elige al vidrio como el material de envase de la bebida nutracéutica pues al tratarse de una bebida natural con muy pocos aditivos en comparación con los ofrecidos en el mercado, este envase almacenará de forma más eficaz el producto

diseñado conservando incluso sus características organolépticas, pues contrario al PET (el envase más usado en la industria y económico), es totalmente inerte con bebidas y alimentos incluso a altas temperaturas. En la figura 21 a continuación se exponen los tipos de vidrio y su uso comercial.

Figura 21. Tipos de vidrios.

Tipo	Usos
<b>Vidrio duro.</b>	En utensilios de laboratorio.
<b>Vidrio Flint.</b>	Usado en óptica y envases de gran capacidad volumétrica, enseres con fines decorativos.
<b>Vidrio ligero.</b>	Fabricación de envases comerciales.
<b>Vidrio de Jena.</b>	En utensilios de laboratorio.
<b>Vidrio de uso farmacéutico.</b>	Inerte, en productos farmacéuticos.
<b>Vidrio calizo.</b>	En vasos, vajillas, mesas, ventanas otros enseres.
<b>Vidrio de boro-silicato (Pyrex)</b>	Material de laboratorio, utensilios refractarios.

**Fuente:** CAMELO Jorge. Propuesta del montaje de una fábrica de láminas de vidrio en Riohacha y productos secundarios a partir de vidrio reciclable. Proyecto para optar al Título en Ingeniería Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. 2007. Citado en: 28 de febrero de 2019. p; 22.

“El cierre es un elemento fundamental para garantizar la estanqueidad del recipiente en su totalidad”<sup>54</sup>. Los materiales de cierre usados en envases de vidrio son diversos, desde corchos para el caso de los vinos, plástico para envases de boca ancha y cierres metálicos con recubrimiento plástico interno que son los más usados en la industria.

Como Sanleón<sup>55</sup> explica los cierres metálicos para envases se utilizan en diversas formas. Existen las tapas tipo corona normalmente usada en bebidas con presión interna superior a la exterior como el caso de gaseosas o cervezas, las cápsulas de aluminio desgarrables con lengüeta usadas en productos alimenticios gelatinosos cuando las presiones internas y externas son aproximadamente iguales y finalmente las más comunes se tratan de las capsulas de rosca que encajan a la perfección en la boca de la botella; estas últimas garantizan alta

<sup>54</sup> SANLEON Raquel. Guía técnica de envase y embalage: AINIA. [Consultado en: 02 de marzo de 2019]. Disponible en Internet: <http://www.guiaenvase.com/bases/guiaenvase.nsf/V02wp/735FAF44C0F32093C1256F250063FA7A?Opendocument>.

<sup>55</sup> Ibid

hermeticidad específicamente las tapas tipo twist off de la ilustración 18 permiten un sellado al vacío donde la presión interna del producto es inferior a la exterior.

El envase a usar específicamente se observa en la ilustración 18, de vidrio ligero con capacidad volumétrica de 300 ml y tapa metálica tipo twist off de 38 mm de diámetro con revestimiento de barnices orgánicos, colores dorados y blancos, permitidos en la industria de alimentos, y una capa de plastisol interna que evita la corrosión de la misma. La anterior es la descripción del envase seleccionado para la presentación comercial y conservación de la bebida nutracéutica con recomendación de almacenamiento en refrigeración.

Ilustración 18. Envase propuesto para la bebida nutracéutica.



**Fuente:** Discordoba. Tapa twist off 38 mm Dorada y envase vidrio EA4178BM. [En línea]. 2015. Disponible en: <https://www.discordoba.com/index.php/envases-vidrio-alimentos/ea4001bp-1-detail>

"La etiqueta es una parte integral del empaque y suele identificar al producto o marca, quién lo hizo, dónde y cuándo se hizo, cómo debe usarse y el contenido y los ingredientes del producto"<sup>56</sup>. Para el diseño de la presente etiqueta se siguió las instrucciones de rotulado de la resolución 5109 del 2005 del Ministerio de la protección social "por la cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos de rotulado o etiquetado que deben cumplir los alimentos envasados y

---

<sup>56</sup> ROGER Kerin, STEVEN Hartley. Marketing. Novena Edición, de, McGraw-Hill Interamericana, 2009. [Consultado en: 31 de enero de 2019]., p. 299

materias primas de alimentos para consumo humano”<sup>57</sup>.

Un alimento con objeto comercial debe presentar de manera concisa los ingredientes que lo componen recordando que estos no deben representar riesgo alguno a la salud humana, en caso de contener ingredientes alérgenos o de otras características debe mencionarse en el producto. La etiqueta diseñada para la bebida nutracéutica se presenta en la ilustración 19; en la parte inferior derecha se especifican los ingredientes en orden de mayor a menor proporción, precisando el porcentaje contenido de concentrado de hidrolato y extracto acuoso de estevia usado como edulcorante. A continuación, se especifican las instrucciones de almacenamiento y uso, que según el desarrollo de la experimentación y la naturaleza del componente bioactivo se recomienda que sea un producto refrigerado, el fabricante, el lote y la fecha de vencimiento. En la parte superior derecha de la etiqueta se muestra la tabla nutricional que detalla la cantidad de grasa, azúcares y contenido de calcio que contiene el producto por cada porción de 300 mL correspondientes a la presentación de venta; la definición de la cantidad de calcio es primordial en este producto pues además de ser una buena fuente de antioxidantes se promociona como fuente de calcio así que el consumidor debe tener acceso a su valor numérico; por otro parte no se fija los carbohidratos totales debido a la falta del contenido de fibra dietaría que debe ser determinado por medio de procedimientos experimentales en laboratorios certificados.

---

<sup>57</sup> COLOMBIA.MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL. Decreto Número 5109 de 2005: por la cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos de rotulado o etiquetado que deben cumplir los alimentos envasados y materias primas de alimentos para consumo humano. [Consultado en: 12 de Marzo de 2019]. Disponible en internet: <https://www.invima.gov.co/images/pdf/intranet/Dir%20operaciones/RESOLUCI%C3%93N%203929%20DE%202013.pdf>

Ilustración 19. Etiqueta de la bebida nutracéutica VITAROSA.



Fuente: elaboración propia

En la sección izquierda de la etiqueta se realizó una descripción general del ingrediente antioxidante usado que fue el concentrado de rosas y se especifica la cantidad de flavonoides equivalentes quercetina contenidos a fin de argumentar la declaración como bebida antioxidante en la parte central del rótulo. De forma general y como la norma lo obliga, se enuncian los beneficios de los flavonoides antioxidantes flavonoides y moléculas derivadas sin prometer la cura de enfermedades ni declarar el contenido de principios activos aislados establecidos en las normas farmacológicas<sup>58</sup>.

En la parte central de la etiqueta se encuentra el nombre seleccionado para la bebida que fue VITAL ROSA en honor a la materia prima de la cual se extrajo el biocomponente benéfico, el color característico de la *R. centifolia* inspiró también la gama de tonalidades de la etiqueta que van desde el rosado hasta el violeta. Se destacan las declaraciones en las que se enfatiza que es una bebida endulzada con estevia, no contiene azúcar lo que la hace apta para personas diabéticas, su contenido de calcio justificado en la tabla nutricional y su origen natural y orgánico.

Existen muchos tipos de etiquetas y materiales para la rotulación de bebidas en el

<sup>58</sup> COLOMBIA. MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL. Óp., cit., p. 3.

mercado entre las que destacan las termoencogibles, grabadas y auto adheribles. Las primeras se tratan de etiquetas plásticas de PVC o PET que se ajustan al tamaño y forma de la botella en 360° por medio de un tratamiento térmico, por lo que se precisa de maquinaria especial para su moldeamiento al envase. Las etiquetas grabadas, como su nombre indica, imprimen sobre la superficie del envase toda la información, para ello se necesita de tratamientos específicos lo que se refleja en un alto costo. Finalmente se encuentran las etiquetas autoadhesivas que “pueden ser de papel o plástico y ser aplicadas manualmente o con máquinas etiquetadoras, su presentación es en rollo”<sup>59</sup> son las más usadas en la industria pues su costo y disposición sobre el envase es el más práctico y económico.

Con base a la información anterior, se selecciona para la etiqueta de VITAL ROSA papel adhesivo brillante con aditivos que lo hacen ligeramente resistente al agua, teniendo en cuenta que se trata de un producto con almacenamiento en refrigerador, sobre la que se realiza la impresión digital de la información de la Ilustración 19. Como alternativa se postulan etiquetas adhesivas plásticas de vinilo sin embargo por el carácter no biodegradable de este material se hace énfasis en las etiquetas de papel.

Respecto al tamaño y las dimensiones de la etiqueta “en el caso de un envase cilíndrico o casi cilíndrico, será el cuarenta por ciento (40%) de la superficie total; sin embargo, cuando el envase presente una “cara principal de exhibición” obvia el área constará de la superficie completa de esa cara”<sup>60</sup>. El envase de vidrio de 300 ml presenta una zona lisa que permite la adhesión de la etiqueta, esta zona se puede interpretar como la “cara principal de exhibición”, por ende la etiqueta del material previamente descrito presenta una apariencia rectangular que se ajusta a esta cara y cuyas dimensiones son 17.5 cm de ancho y 8 cm de alto.

---

<sup>59</sup> COSMOS. Información técnica sobre etiquetas para botellas [en línea]. [Consultado en: 02 de marzo de 2019]. Disponible en internet: <https://www.cosmos.com.mx/wiki/etiquetas-para-botellas-47dl.html>

<sup>60</sup> COLOMBIA. MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL. DECRETO NÚMERO 5109 DE 2005, Op. cit., p. 13.

## 5. DISEÑO DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN

Con base a la formulación del nutraceutico ya definido se procedió a diseñar el proceso de producción para esta bebida. Actualmente se cuenta con la estructura que permite la fabricación y obtención del hidrolato, por consiguiente, se propone en este capítulo los acondicionamientos pertinentes para establecer las unidades de proceso faltantes para la producción de la bebida.

### 5.1 OBTENCIÓN HIDROLATO DE ROSAS

Si bien el objeto inicial del proceso de destilación de rosas por arrastre de vapor es la producción de agua de rosas orgánica, en el presente texto se presenta al hidrolato ya no como subproducto sino producto principal de este proceso térmico.

A continuación, se describe el proceso actual:

- **Recolección de Flores**

Se inicia el proceso con la recolección manual de la flor de *R. centifolia*, evitando la adición de tallo y la hoja de la planta. Para cada proceso son necesarios aproximadamente entre 3-4 kg de flores enteras y/o pétalos de rosa que una vez pesados se disponen en el tanque de destilación (2) de la ilustración 20.

- **Destilación por arrastre de Vapor.**

De acuerdo con la Ilustración 20 la caldera (1) es cargada con 20 L de agua desionizada por el método EcoSmarte® el cual consiste en la decantación de partículas mayores de 50M y la floculación de materia orgánica del agua proveniente del acueducto local, posteriormente se purifica el agua mediante la aplicación de energía ionizante y filtraciones sucesivas con carbón activado, gravilla fina y vidrio pulverizado<sup>61</sup>. El agua calentada en la caldera a una temperatura de 93°C aproximadamente se estabiliza dos horas después a 97°C donde se produce vapor sobrecalentado a flujo constante.

Dicho vapor saturado entra en contacto con la materia prima ubicada en la cámara de destilado (2) donde los pétalos de la rosa comienzan, por acción del aumento de la temperatura, la liberación de las moléculas y componentes más volátiles de (aceite esencial) que son “arrastrados” por el vapor.

---

<sup>61</sup> TELMOREHM. Ficha técnica del Agua de rosas. [Consultado en: 3 de marzo de 2019]. Disponible en internet: <https://telmorehm.com/images/Ficha-Tecnica-Agua-de-Rosas.pdf>

El vapor rico en sustancias volátiles se dirige a un condensador en espiral (3) donde, por intercambio de calor con agua a 13°C, reduce su temperatura cambiando de estado vapor a estado líquido. Finalmente el fluido, ahora con contenido de moléculas volátiles, denominado agua de rosas y producto principal de la destilación, se recolecta en un matraz de vidrio (4) con capacidad de 5L.

Ilustración 20. Sistema producción agua de rosas/Hidrolato.



Fuente: elaboración propia

- **Hidrolato o té de rosas.**

La materia vegetal, contenida en los fondos del tanque de destilado o marmita, una vez finalizado el proceso de destilación por arrastre de vapor contiene grandes cantidades de agua como se evidencia en la Ilustración 21. De aspecto turbio, color marrón y sabor agrio fue considerado durante varios años como un residuo, sin embargo, debido al contenido de componentes solubles en agua principalmente derivados fenólicos como los flavonoides propios de la *Rosa centifolia* ampliamente conocidos por sus propiedades antioxidantes, actividad antidepresiva etc., lo convirtieron en un coproducto del proceso de hidrodestilación de agua de rosas y materia prima base para la elaboración de una bebida nutracéutica funcional.

Ilustración 21. Apariencia de los Fondos del tanque de destilado.



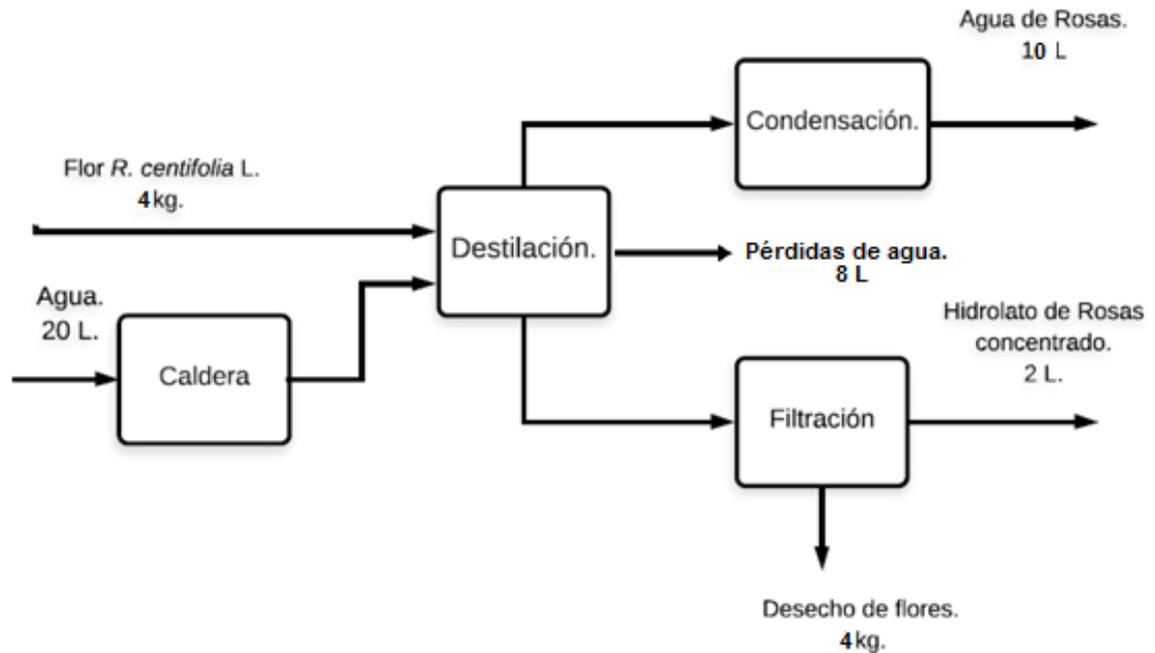
Fuente: elaboración propia

- *Filtración Hidrolato.*

A fin de separar la materia orgánica de gran tamaño de la parte líquida de los fondos del tanque de destilación se realiza en el proceso actual un filtrado manual en un filtro de marco de policarbonato y malla de nylon con 10 cm de Diámetro. Se aplica presión con un recipiente de policarbonato a la materia mientras es filtrada a fin de obtener la mayor cantidad de líquido que en cada lote de destilación es aproximadamente 2 L.

La descripción anterior del proceso se aprecia de manera concreta en el diagrama de bloques para el proceso actual de la figura 22, en el que además se muestra el balance de materia para la obtención del subproducto, y ahora materia prima, hidrolato. El balance de masa incluye las pérdidas actuales del proceso en términos del agua que ingresa, estas pérdidas se expresan en litros. Las pérdidas del proceso están ligadas directamente al no aislamiento térmico de los equipos en conjunto.

Figura 22. BFD proceso de producción actual del hidrolato concentrado.



**Fuente:** elaboración propia

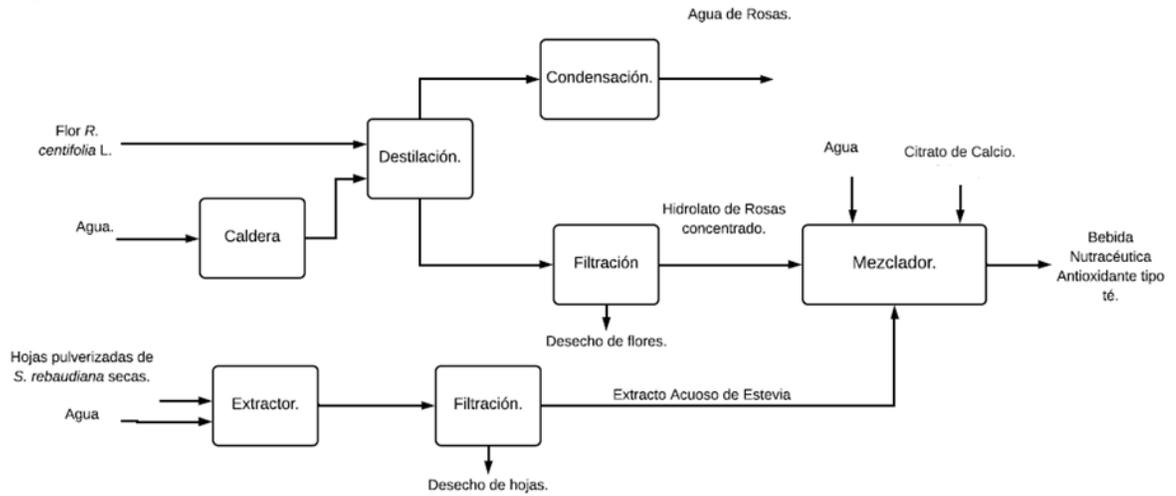
La hidrodestilación, se trata de un proceso semi-continuo, con carga del material vegetal en forma de lecho por lote o tipo batch. Al definirse como un proceso semicontinuo se tiene en cuenta que parte del proceso general, específicamente la condensación del vapor con aceite esencial de rosas, funciona de manera continua con flujo de agua fría para producir el cambio de fase.

## 5.2 DISEÑO BFD Y PFD PARA LA PRODUCCIÓN DE LA BEBIDA NUTRACÉUTICA

La propuesta de diseño del proceso para la producción de una bebida tipo té se presenta a continuación en el Diagrama de bloques BFD de la figura 23.

En el diagrama de la figura 23 se Incluyen las adiciones respecto a las operaciones de procesos necesarias para la producción de la bebida, donde se adjuntan al proceso actual de producción de hidrolato (hidrodestilación) las unidades necesarias para la producción inmediatamente posterior de la bebida.

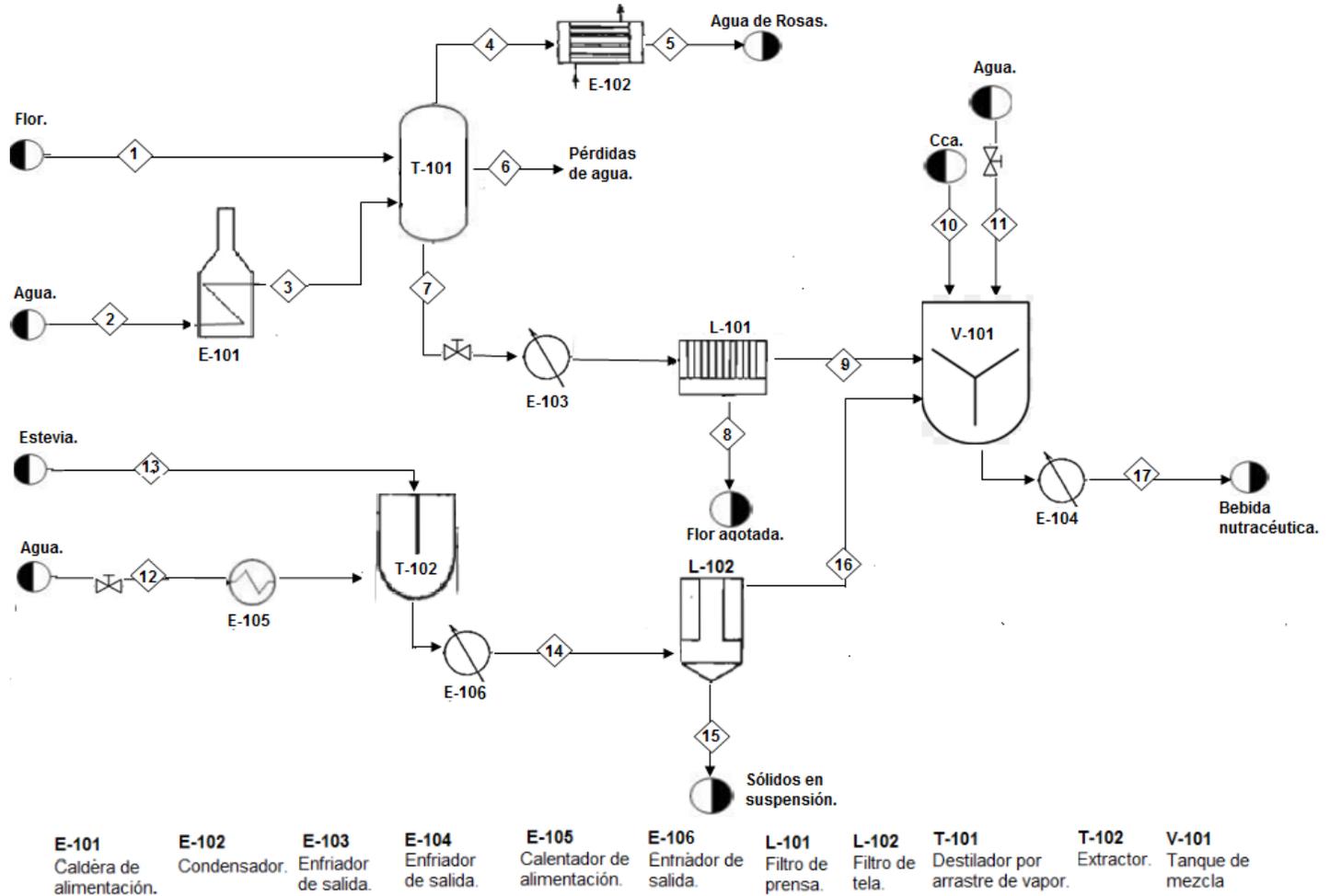
Figura 23. BFD del proceso de producción de bebida nutracéutica actual.



**Fuente:** elaboración propia

En la figura 24 se detalla el proceso de hidrodestilación y de producción semicontinua de la bebida en un diagrama PFD, en la que se incluyen las unidades relacionadas con la producción del edulcorante, el tratamiento (agitación) del aditivo conservante-antioxidante y se especifican las corrientes del proceso general. Dichas corrientes del proceso corresponden al balance de masa del diseño de procesos propuesto, el cual fue calculado con base a 28 días de operación (mes) y un lote de producción diario.

Figura 24. Diagrama PFD para la producción de la bebida nutracéutica tipo té



Fuente: elaboración propia

Teóricamente, para el balance de materia presentado en la tabla 23 se toman los valores presentados en la figura 22 correspondiente al diagrama de bloques del proceso de hidrodestilación actual en el que existen pérdidas de agua, en relación al volumen de ingreso inicial de este líquido, del 40%. Respecto a las unidades de proceso propuestas en el diagrama PFD de la figura 24, enfocadas a la producción de la bebida, entre las que se encuentra el tanque de mezcla de aditivos V-101, el extractor en el que se elabora el edulcorante denominado T-102 y sus correspondientes intercambiadores de calor y la adición de un filtro de prensa con nomenclatura L-102; no se tuvo en cuenta pérdidas debido a que se trata de una propuesta teórica del aprovechamiento de un subproducto de la destilación.

Tabla 23. Balance de masa para la producción de bebidas nutraceuticas por lote.

#	Composición	kg/mes	$\rho$ kg/L	L/mes	T (°C)
1	Flores	112	-	-	16
2	Entrada de agua	560	1	560	16
3	Vapor de agua	560	1	560	97
4	Vapor de agua + volátiles	280	0.99	280	100
5	Agua de rosas	280	0.99	280	97
6	Pérdidas de agua	224	1	224	100
7	Fondos	56	1	56	60
8	Flor agotada	112	-	-	24
9	Hidrolato filtrado	56	1	56	35
10	Citrato de calcio	0.224	1.63	0.14	16
11	Agua	163.52	1	163.52	16
12	Agua	4.48	1	4.48	16
13	Estevia	0.45	-	-	16
14	EAE sin filtrar	4.48	1.01	4,44	35
15	Sólidos en suspensión	0.45	-	-	25
16	EAE filtrado	4.48	1.01	4.44	35
17	Bebida final	224	1.0	224	25.75

Fuente: elaboración propia

La hidrodestilación o destilación por arrastre de vapor es un proceso con consumo energético y acuífero importante. El consumo de los recursos previamente enunciados se debe principalmente a la necesidad de producción constante, aproximadamente durante 7 a 8 horas, de vapor saturado o sobrecalentado en la caldera; el vapor como fuerza impulsora del procedimiento se genera a partir de condiciones de presión superior atmosférica que se alcanzan a altas temperaturas

y se reflejan directamente sobre el consumo de gas particularmente. Por otra parte, el control de la temperatura a lo largo del proceso actual y en el diseño propuesto se regula por medio de cinco intercambiadores de calor (entre los que se incluye el condensador) cuyo funcionamiento precisa de energía eléctrica.

Por lo anterior detallado, en la descripción de los equipos usados en la producción de la bebida en el cuadro 6 se incluye el consumo, en términos de energía eléctrica y gas, de estos; si bien no se cuentan con datos concretos ni reales de los equipos del proceso existente, se procedió a investigar equipos de destilación, tanques de mezclado e intercambiadores de calor con capacidades volumétricas similares al proceso actual y a las unidades propuestas, y cuyo consumo energético es especificado por el fabricante o vendedor; otras especificaciones técnicas son expuestas en el anexo K.

Cuadro 6. Equipos usados en la producción de la bebida nutracéutica.

<b>Equipo</b>	<b>Descripción</b>	<b>Capacidad</b>	<b>Consumo</b>
<b>E-101</b>	Caldera donde se produce vapor sobrecalentado a una presión superior que la atmosférica durante aproximadamente 7 horas. Este fluido arrastra las moléculas volátiles contenidas en los pétalos de la rosa, una fracción de este vapor se condensa en la marmita produciendo el hidrolato de rosas.	20 L	4 Lb de gas propano (durante 7 horas)
<b>T-101</b>	Destilador, cámara destiladora o marmita donde son introducidos los 40 kg de rosas, esta unidad es la que recibe el vapor sobrecalentado o saturado que proviene de la caldera que en contacto con la fase sólida provoca la liberación de los componentes más volátiles de la rosa, se condensan en fondos los compuestos solubles y con mayor peso molecular de la materia vegetal (hidrolato).	20 L	ND
<b>E-102</b>	Condensador que consiste en un tubo en espiral de acero inoxidable que usa como medio de enfriamiento agua a temperatura ambiente, el consumo energético del equipo se debe a la bomba de ½ hp que permite la circulación y el cambio constante del agua refrigerante. El cambio de fase del vapor proveniente del destilador (que arrastra los compuestos volátiles) produce directamente agua de rosas.	5 L	0.37 kWh
<b>E-103</b>	Intercambiador de calor refrigerante de carcasa y tubos líquido- líquido que reduce la temperatura de los fondos de la marmita (hidrolato de rosas), por medio de agua como líquido refrigerante, para proseguir con su filtración.	5 L	2.37 kWh

Cuadro 6. (Continuación)

<b>E-104</b>	Intercambiador de calor de carcasa y tubos líquido-líquido que reduce la temperatura del producto final hasta 26 °C para ser posteriormente empacado.	10 L	2.37 kWh
<b>E-105</b>	Calentador de paso que aumenta la temperatura del agua antes de entrar al extractor T-102 para la preparación del edulcorante, el calentamiento posterior permite una extracción más rápida y eficiente de los esteviosidos presentes en la estevia.	1 L	2.37 kWh
<b>E-106</b>	Intercambiador de calor refrigerante de carcasa y tubos líquido- líquido que reduce la temperatura del extracto acuoso de estevia para proseguir con la filtración de este.	2 L	2.37 kWh
<b>L-101</b>	Filtro de prensa que permite, por medio de una presión 1 Mpa, la filtración de los fondos de la marmita obteniéndose un hidrolato libre de residuos sólidos de gran tamaño y adicionalmente una mayor cantidad de este líquido. Este filtro consiste en placas y marcos con tela filtrante por donde se hace circular el hidrolato bajo condiciones de presión superiores a la atmosférica.	20L	1.5 kWh
<b>L-102</b>	Filtro de bolsa de polipropileno con tamaño de poro de 100 µm que permite la remoción de partículas sólidas de gran tamaño del extracto acuoso de estevia. El consumo energético de este filtro está determinado por la bomba de ½ hp que permite la circulación del fluido.	2L	0.37 kWh
<b>T-102</b>	El extractor consiste en un tanque de agitado con chaqueta que permite el calentamiento de la mezcla estevia-agua para la extracción de los componentes dulces de la misma.	2 L	2 kWh
<b>V-101</b>	El mezclador consiste en un tanque con agitación continuo para la integración del hidrolato de rosas, el extracto acuoso de estevia, el agua y el citrato de calcio. No se necesita calentamiento pues la solubilidad del citrato de calcio aumenta con la disminución de la temperatura aprovechándose la energía térmica de cada una de las corrientes entrantes. El consumo energético por hora incluye el gasto del motor incluido en el equipo y la operación de la bomba para el ingreso de las corrientes	10 L	1 kWh

**Fuente:** elaboración propia

En la tabla 24 se calculó el balance general de masa del sistema a partir de los flujos másicos mensuales de entrada y salida, en el que se incluye las unidades existentes de la hidrodestilación y las propuestas para la producción de la bebida; los análisis de estas corrientes confirman que el recurso con más consumo es el agua

Tabla 24. Balance de masa global para el PFD.

#	Composición	Entrada kg/mes	Salida kg/mes
1	Flores	112	
2	Entrada de agua	560	
5	Agua de rosas		280
6	Pérdidas de agua		224
8	Flor agotada		112
10	Citrato de calcio	0.22	
11	Agua	163.52	
12	Agua	4.48	
13	Estevia	0.448	
15	Sólidos en suspensión		0.45
17	Bebida final		224.22
<b>Total</b>		<b>841</b>	<b>841</b>

Fuente: elaboración propia

Para una producción mensual de 224 kg de bebida nutracéutica, se obtiene con base a la densidad de esta aproximada de 1.0 kg/L (teniendo en cuenta que más del 70% de la formulación corresponde a agua), una producción volumétrica mensual de 224 L. De acuerdo a las determinaciones de diseño previamente especificadas, para una presentación de venta de 300 mL se obtiene en total 747 unidades mensuales de la bebida funcional.

## 6. ANÁLISIS ECONÓMICO

En este capítulo se estima el costo de producción de la bebida nutracéutica-funcional. El desarrollo inicia con un análisis del costo económico de las materias primas, posteriormente se evalúan los posibles gastos de energía para cada uno de los equipos involucrados en el proceso dependiendo del tiempo de operación, además de los gastos que involucran el personal contratado.

El proceso actual de destilación para la obtención del hidrosol o agua de rosas conlleva un total de 7 horas de producción continua de vapor hasta agotar (de los componentes volátiles) la materia vegetal contenida en la marmita, en adición a este tiempo se contabilizan de 2-3 horas de recolección de las rosas. Sin embargo, teniendo en cuenta que el presente proyecto presenta la propuesta de desarrollo de una bebida funcional a partir de un residuo actual existente del proceso de destilación, los costos fijos y variables por presentar fueron calculados respecto a la materia prima especificada en la formulación de la bebida, la introducción y consumo de recursos de los nuevos equipos de operación (especificados en la cuadro 6 y en el diagrama PFD de la figura 24) y la viabilidad del proyecto de aprovechamiento del hidrolato con la determinación del indicador económico TIR.

Cada lote de producción de agua de rosa implica la mano de obra de 2 personas cuyo tiempo de trabajo es un turno de 8 horas y 4 horas (medio tiempo) para el otro trabajador. Para el caso concreto de la bebida, teniendo en cuenta los procedimientos de formulación del capítulo 4, y que el proceso que implica mayor tiempo es la preparación del extracto acuoso de estevia de dos horas y un estimado de producción total de 4 horas, se precisa de un operario con contrato de medio tiempo equivalente a 4 horas diarias y/o 24 semanales. Por consiguiente, en el cuadro 7, se adjunta la información necesaria para la estimación de los costos relacionados con la producción específica de la bebida.

Cuadro 7. Información de limitante para los costos de producción.

<b>Concepto.</b>	<b>Especificación.</b>
<b>Lotes diarios</b>	1
<b>Cantidad de botellas por lote</b>	26
<b>Operarios</b>	1 (medio tiempo)
<b>Tiempo estimado para la producción de la bebida nutracéutica.</b>	4 horas.

## 6.1 COSTOS VARIABLES

**6.1.1 Materias primas.** En la tabla 25 se presentan de manera ordenada la cantidad mensual requerida de cada materia prima, su valor unitario y total.

Tabla 25. Costos mensuales por materia prima.

Materia prima.	Cantidad	Unidad	Precio/ unidad (\$COP)	Precio total (\$COP)
Citrato de calcio	0.22	Kg	7,500	1,650
Hoja de estevia pulverizada	0.44	Kg	75,000	33,000
Botellas 300 mL con tapa metálica	747	Unidades	800	597,600
Etiquetas impresas.	747	Unidades	180	134,460
<b>Total</b>				<b>\$ 766,710</b>

Fuente: elaboración propia

Como se observa en la tabla 25, teniendo en cuenta que el hidrolato o materia prima principal es un residuo de un proceso previo que no tiene costo actual definido, y en adición a que la determinación de la viabilidad del aprovechamiento es el objeto principal del presente capítulo, se incluyó en el costo respecto a las materias primas sólo el valor de los empaques, las etiquetas el edulcorante y el conservate.

El valor de agua y alcantarillado tiene gran incidencia sobre el costo final del producto; recordando su uso en la elaboración del EAE y la necesidad de dilución en relación 1:3 para la obtención de la bebida, se requiere un consumo final específico para el producto de 168 L/mes. En la tabla 26 se asocia el costo por m<sup>3</sup> para el municipio de Tibaná, al tratarse de una zona rural no hay costos asociados al servicio de alcantarillado.

Tabla 26. Costos asociados del proceso al consumo de agua.

Servicio	Consumo	Unidad	Cargo fijo (COP)	Precio m <sup>3</sup> (COP)	Precio total mes (COP).
Acueducto	0.17	m <sup>3</sup>	\$ 5,544	\$ 3,040	\$ 6,061

De los datos adjuntos para el valor de la materia prima de la bebida se procede a calcular el valor por unidad del producto en base a la formulación original sin tener en cuenta el recargo por energía como se evidencia en la tabla 27.

Tabla 27. Costo unitario de la bebida.

<b>Materia prima</b>	<b>Cantidad.kg</b>	<b>Costo (COP)</b>
<b>Citrato de calcio.</b>	0.0003	0.00225
<b>Extracto acuoso de estevia 4.8-5° Brix.</b>	0.006	450
<b>Agua (m<sup>3</sup>)</b>	0.000219	1.33
<b>Botella y etiqueta</b>		980
<b>Costo individual bebida COP</b>		<b>\$ 1,431</b>

El costo unitario obtenido por bebida es de \$1,431 pesos colombianos. Para establecer el precio comercial del producto se realiza una revisión del estado del mercado colombiano actual respecto a bebidas funcionales o nutricionales. En la tabla 28 se registran algunas bebidas encontradas que declaran propiedades nutraceuticas la mayoría de estas elaboradas a partir de mucílago de café, frutas y otra con costos más altos por su contenido de probióticos. El rango de precios para estas bebidas se encuentra entre \$3000 y \$13,000 pesos colombianos para 300 mL.

Tabla 28. Costo de algunas bebidas funcionales en Colombia.

<b>Nombre /origen.</b>	<b>Presentación comercial mL.</b>	<b>Precio.</b>	<b>Precio por 300 mL.</b>
<b>LIXIR (café)</b>	250	\$ 3,000	\$ 3,600
<b>NAOX (café)</b>	300	\$ 4,200	\$ 4,200
<b>BE+ (café)</b>	400	\$ 4,500	\$ 3,375
<b>Vita</b>	1000	\$ 43,000	\$12,900
<b>Biosa.(probióticos)</b>			
<b>YOX (probióticos lácticos)</b>	100	\$ 1,350	\$4,050
<b>Mamba.(frutas)</b>	300	\$ 3500	\$3,500

Fuente: elaboración propia

Con base a las bebidas analizadas de la tabla 28, y al contenido determinado de antioxidantes de la bebida propuesta y en adición a que en el mercado no se encontró bebidas con origen el mismo origen vegetal a partir de la rosa, se propone un costo de venta \$ 4,000 para VITALROSA.

**6.1.2 Costo energético** El costo energético incluye el valor de luz y gas consumidos durante el proceso; el costo del Kwh para el municipio de Tibaná, en zona rural donde se encuentra localizada la planta actual, es de \$ 562.62. Los cálculos involucrados para evaluar el consumo general de energía y gas se realiza teniendo en cuenta las especificaciones técnicas adjuntadas en el anexo K y la

información pertinente del capítulo previo consignada específicamente en el cuadro 6.

Tabla 29. Consumo energético al mes.

Equipo	Consumo Kw	Horas /lote	Horas/mes	Total Kw/mes	\$/kWh (COP)
E-104	2.37	1	28	66.36	37,335
E-105	2.37	1	28	66.36	37,335
E-106	2.37	1	28	66.36	37,335
L-101	1.5	0.5	14	21	11,815
L-102	0.37	0.5	14	5.18	2,914
T-102	2	2	56	112	63,013
V-101	1	1.5	42	42	23,630
<b>Total COP</b>					<b>213,379</b>

Fuente: elaboración propia

La determinación de los costos variables por concepto energético de la tabla 29, se realizó para el proceso de producción de la bebida que inicia en la corriente 7 del diagrama PFD de la figura 24, correspondiente a la filtración del hidrolato obtenido en los fondos de la marmita. Se obtuvo un costo por concepto energético aproximado de \$ 213,379.

**6.1.3 Costo de mano de obra.** Para la realización de 1 lote de producción de la bebida VITALROSA se requiere un tiempo total de 4 horas al día lo que deriva en el medio tiempo de un operario. En la tabla 30, se muestra el costo para medio tiempo de trabajo calculado según los valores para el salario mínimo legal vigente del año 2018

Tabla 30. Costo por mano de obra mensual

Concepto.	Valor Legal 2018	Operarios/Día
Cantidad horas laboradas	8 diarias/ 48 semanales	4 diarias/ 24 semanales
Salario/mes	781,242	390,621
Auxilio Transporte	88,211	44,106
Vacaciones	32,552	16,276
Cesantías	72,454	36,227
Int. Cesantías	8,695	4,347
Primas Servicios	72,454	36,227
Salud	66,400	33,200
Pensiones	93,800	46,900
Riesgo Profesional II	8,200	4,100
ICBF, SENA	70,312	35,156
<b>Total Mes (\$)</b>		<b>\$ 647,160</b>

Se realiza finalmente en esta parte del análisis económico un balance respecto a costos e ingresos relacionados con la producción de la bebida y la venta de la misma como se muestra en la tabla 31. Se recuerda que en una producción mensual se obtienen 747 de botellas en presentación de 300 mL con un precio de venta al público, previamente justificado, de \$4,000 COP.

Tabla 31. Margen operacional de producción.

	<b>Costo mensual</b>	<b>Ingreso mensual</b>
<b>Materia Prima</b>		
<b>Material</b>	766,710	
<b>Agua</b>	6,061	
<b>Costo energético</b>		
<b>Luz</b>	213,379	
<b>Personal.</b>	647,160	
<b>Bebida Final</b>		2,988,000
<b>Total</b>	1,633,310	2,988,000
<b>Margen Operacional</b>		<b>1,354,690</b>

Fuente: elaboración propia

## 6.2 COSTOS FIJOS: INVERSIÓN

Como costos fijos se desarrolló el análisis de la inversión de los equipos propuestos para la producción de la bebida (ver figura 24). Los costos de las unidades propuestas en el diseño se anexan en la tabla 32.

Tabla 32. Costos de inversión.

<b>Código</b>	<b>Equipo</b>	<b>Cantidad.</b>	<b>Precio USD</b>	<b>Precio COP *</b>
<b>E-103</b>	Intercambiador de Calor	1	\$ 150	\$ 468,900
<b>E-104</b>	Intercambiador de Calor	1	\$ 150	\$ 468,900
<b>E-105</b>	Intercambiador de Calor	1	\$ 150	\$ 468,900
<b>E-106</b>	Intercambiador de Calor	1	\$ 150	\$ 468,900
<b>L-101</b>	Filtro de prensa	1	\$ 980	\$ 3,063,480
<b>L-102</b>	Filtro de tela o bolsa	1	\$ 552	\$ 1,725,552
<b>T-102</b>	Extractor	1	\$ 1,800	\$ 5,626,800
<b>V-101</b>	Tanque de mezcla	1	\$ 500	\$ 1,563,000
<b>Total COP</b>				<b>\$ 13,854,432</b>

\* TRM día 8 de abril de 2019: \$3,126

\*Valores cotizados en: <https://www.alibaba.com/trade/>

Se requiere una inversión de \$13,854,432 millones de pesos colombianos; se estima un tiempo de vida útil para la maquinaria de 10 años sobre los que se

calcula la depreciación en línea recta según la ecuación 7 para un tiempo de análisis de seis meses.

Ecuación 7 . Depreciación mensual en línea recta.

$$D.R = \frac{\text{Valor del activo.}}{\text{Vida útil}}$$

$$\frac{13,854,432}{120} = \mathbf{115,454}$$

En la tabla 33 se presenta el flujo general en el que se incluyen ingresos y gastos previamente especificados, además el costo de inversión necesaria para la maquinaria se calcula con base a la depreciación lineal mensual de \$ 115,454. Este flujo general previo permitirá posteriormente determinar la viabilidad económica o no del presente proyecto

Tabla 33. Flujo general de fondos para el proyecto.

	0	1	2	3	4	5	6
<b>Ingresos, ventas</b>		2,988,000	2,988,000	2,988,000	2,988,000	2,988,000	2,988,000
<b>Costos de producción</b>		1,633,310	1,633,310	1,633,310	1,633,310	1,633,310	1,633,310
<b>Depreciación</b>		115,454	115,454	115,454	115,454	115,454	115,454
<b>Costo inversión</b>	13,854,432						13,854,432

Fuente: elaboración propia

Con base al flujo general de la tabla 33 se realizará el cálculo del indicador abreviado como VPN (valor presente neto) manejando un valor de TIO del 1.88%, definida como la tasa de interés a la que el inversor está dispuesto a ganar, y un impuesto de renta del 34% establecido por la DIAN<sup>62</sup>. En la tabla 34 se especifica el flujo de caja libre proyectado para seis meses de análisis

<sup>62</sup> DIAN. Impuestos en Colombia. [Consultado en: 02 de abril de 2019]. Disponible en internet: <https://www.dian.gov.co/impuestos/reformatributaria/impuestorenta/Paginas/default.aspx>  
<https://www.dian.gov.co/impuestos/reformatributaria/impuestorenta/Paginas/default.aspx>

Tabla 34. Flujo de caja libre para seis meses.

	Mes.						
	0	1	2	3	4	5	6
<b>Ingresos, ventas</b>		2,988,000	2,988,000	2,988,000	2,988,000	2,988,000	2,988,000
<b>Costos de producción</b>		(1,633,310)	(1,633,310)	(1,633,310)	(1,633,310)	(1,633,310)	(1,633,310)
<b>Depreciación</b>		115,454	115,454	115,454	115,454	115,454	115,454
<b>UTILIDAD GRAVABLE</b>		1,239,236	1,239,236	1,239,236	1,239,236	1,239,236	1,239,236
<b>Impuestos (34%)</b>		421,340	421,340	421,340	421,340	421,340	421,340
<b>UTILIDAD NETA</b>		1,660,576	1,660,576	1,660,576	1,660,576	1,660,576	1,660,576
<b>Depreciación</b>		115,454	115,454	115,454	115,454	115,454	115,454
<b>FLUJO OPERACIONAL.</b>		1,776,030	1,776,030	1,776,030	1,776,030	1,776,030	1,776,030
<b>Flujo de inversión máquinas y equipos.</b>	(13,854,432)						13,161,708
<b>FLUJO DE CAJA LIBRE</b>	<b>(13,854,432)</b>	<b>1,776,030</b>	<b>1,776,030</b>	<b>1,776,030</b>	<b>1,776,030</b>	<b>1,776,030</b>	<b>14,937,738</b>

Fuente: elaboración propia

El VPN y la TIR son indicadores de la viabilidad económica de un proyecto. Para calcular el primero se toman los flujos de caja determinados en la tabla 34; en la ecuación 8, el valor  $i$  hace referencia a la tasa de interés mínima condicional para que el inversor está dispuesto a ganar de 1.88% mensual.

Ecuación 8 .Valor Presente Neto.

$$VPN = -I_0 + \frac{FC_1}{(1+i)^1} + \frac{FC_2}{(1+i)^2} + \dots + \frac{FC_n}{(1+i)^n}$$

Por su parte, la tasa interna de retorno o TIR corresponde al valor en % que convierte al VPN en 0. En adición, un valor mayor o igual de este indicador en comparación con la TIO (1.88%) define si se genera o no rentabilidad en el desarrollo del proyecto. Su cálculo corresponde a la estructura matemática de la ecuación 9.

Ecuación 9. Tasa interna de retorno o rentabilidad.

$$0 = -I_0 + \frac{FC_1}{(1+i)^1} + \frac{FC_2}{(1+i)^2} + \dots + \frac{FC_n}{(1+i)^n}$$

En la tabla 35 se expone en resumen la evaluación financiera del proyecto correspondiente a los flujos de caja libre de 6 meses de análisis y la determinación de los indicadores previamente explicados.

Tabla 35.Resumen financiero del proyecto.

Inversión	1	2	3	4	5	6	VPN	TIR	TIO
(13,854,432)	1,776,030	1,776,030	1,776,030	1,776,030	1,776,030	14,937,738	7,904,351	12%	1.88%

Fuente: elaboración propia

La producción de la bebida VITALROSA y el desarrollo del proyecto propuesto, con base a el principal indicador de rentabilidad que es la TIR, muestra que se trata de un proyecto conveniente y rentable; al ser del 12% se estima un rendimiento superior al mínimo establecido para la inversión inicialmente que fue de 1.88 % correspondiente a la TIO.

## 7. CONCLUSIONES

- El estudio fisicoquímico del hidrolato permitió, por medio del análisis por infrarrojo y cromatografía CCD, detectar la presencia de flavonoides tipo quercetina en el residuo de la destilación por arrastre con vapor de la rosa, utilizándose a este flavonol como referencia en todos los procedimientos de caracterización y formulación de la bebida.
- Para el extracto de hidrolato de rosas se obtuvo como resultado un valor numérico para los componentes fenólicos totales de 0,89 expresados en equivalentes quercetina por mL. Este valor para la Rosa *centifolia* L confirma la viabilidad nutricional del hidrolato como materia prima para el diseño de una bebida de carácter nutracéutico y/o funcional.
- Se presenta el diseño y la formulación de una bebida nutracéutica- funcional con un 25% de contenido de hidrolato de rosas y se establecieron como aditivos al citrato de calcio (conservante ) a dosis de 1 mg/ml y extracto acuoso de estevia al 2% como edulcorante en una solución final de hidrolato en relación 1:3 (hidrolato: diluyente).
- Para la bebida funcional propuesta se sugiere el nombre comercial de VITALROSA con un volumen de presentación de 300 mL; esta bebida contiene un total de 67 mg equivalentes de quercetina que supera el valor de antioxidantes de otras bebidas reconocidas con altos contenidos de quercetina tales como el jugo de arándanos fresco (52,5 mg EQ para 300 mL) y con 300 mg de citrato de calcio como conservante-antioxidante que además ofrece el valor agregado de convertir la bebida en un suplemento enriquecido en calcio.
- Para la producción mensual de 747 botellas de VITALROSA se propone el diseño del proceso PFD en el que se requieren 112 kg de flores y/o pétalos, 0,224 kg de citrato de calcio, 0,448 kg de hojas secas de estevia pulverizadas y 560 L de agua.
- La integración del proceso de producción de la bebida al procedimiento existente de destilación requiere la adición de una unidad de extracción, dos unidades de filtración, cuatro intercambiadores de calor y una unidad de mezclado. En el estudio de costos fijos de la propuesta se concluye que se requiere una inversión de \$13, 854,432 para la adquisición de estos equipos.

- De acuerdo con el análisis de costos se sugiere un valor unitario de \$4,000 pesos para la bebida nutracéutica donde en una producción mensual de 747 unidades se genera un ingreso neto de \$ 1, 686,144.
- El análisis de costos fijos, en los que se incluye el flujo de caja para un tiempo de seis meses, sobre la inversión necesaria para producir la bebida desarrollada arrojó que el proyecto es económicamente viable y rentable, justificándose en el valor de 12% de la tasa interna de retorno (TIR ) que supera a la tasa de oportunidad (TIO) propuesta por el inversionista de 1,88%.

## 8. RECOMENDACIONES

- Evaluar las técnicas para la toma de la muestra, la posterior manipulación y el almacenamiento del hidrolato durante el desarrollo de la experimentación, teniendo en cuenta el efecto del aire (la cámara de vacío en el envasado), la luz y la temperatura sobre el contenido y la estabilidad de las moléculas antioxidantes flavonoides tanto en la materia prima como en la bebida funcional final propuesta.
- Revisar la repetitibilidad y reproducibilidad de los resultados obtenidos en los métodos experimentales ejecutados, donde el control de factores relacionados con la metrología permiten la normalización y trazabilidad de las magnitudes medidas.
- Realizar el procedimiento de cromatografía en columna abreviado CCC para cada uno de los extractos obtenidos en la extracción por solventes secuencial de flavonoides a fin de caracterizar los compuestos presentes en cada fracción.
- Aplicar la cromatografía líquida de alta presión (HPLC) al concentrado de hidrolato para identificar cualitativa y cuantitativamente otros flavonoides presentes tal como las catequinas.
- Realizar el análisis de los fenoles y/o flavonoides totales bajo control de las variables involucradas en el proceso como tiempo de reacción exacto, uso de reactivo previamente elaborados y disponibilidad del equipo de medición para mejorar la precisión de los resultados obtenidos cuya cantidad es crítica en la definición de esta bebida como funcional y/o nutracéutica.
- Realizar los análisis cualitativos descriptivos sensoriales QDA con un panel de evaluadores certificados y calificados en la descripción organoléptica de alimentos.
- Evaluar el efecto sobre las propiedades organolépticas, fisicoquímicas y antioxidantes para la bebida actual cuando se aplican los tratamientos de clarificado y pasteurización típicamente utilizados en la industria de bebidas.
- Realizar un estudio de estabilidad físico, biológico y químico certificado para un rango de tiempo de 180 días ( 6 meses) que es el tiempo máximo de vida útil para una bebida de origen natural establecido por la legislación Colombiana.

- Evaluar el rendimiento del proceso de destilación mediante el análisis de sólidos totales o el contenido de fenoles totales CFT de la materia prima vegetal con respecto al agua de rosas y el hidrolato, con el objeto de supervisar la calidad de los productos y estandarizar las propiedades antioxidantes ofrecidas en la bebida final.
- Analizar la probabilidad de añadir saborizantes de origen natural a la bebida final a fin de convertirla en un producto refrescante más atractivo para los consumidores.
- Realizar los experimentos necesarios para definir el contenido de carbohidratos, vitaminas, grasas y proteínas contenidas (análisis proximal) en la formulación de la bebida a fin de ser presentada la tabla nutricional.
- Evaluar y determinar las condiciones de operación (T, P y t) que permitan la optimización del proceso ya existente de destilación por arrastre con vapor, y los parámetros de diseño para implementar las unidades de proceso involucradas en la producción de la bebida por medio de simulaciones y corridas experimentales.
- Promover el desarrollo de cultivos orgánicos certificados de *Rosa centifolia* L. con el objetivo de aumentar la capacidad de producción del proceso de destilación, el cual se encuentra actualmente limitado por la disponibilidad de esta materia prima.
- Generar otras propuestas de aplicación del hidrolato económicamente viables en distintos campos de la industria como el área química, farmacéutica, alimentaria, agropecuaria etc.

# **ANEXOS**

## ANEXO A.

### OPERACIONES MATEMÁTICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE ST, SD Y SS PRESENTES EN EL HIDROLATO.

- **Sólidos Totales mg/L.**

REPETICIÓN 1

$$\frac{(25.186 - 24.599)}{25} \times 10^6 = 23480 \frac{mg}{L}$$

REPETICIÓN 2.

$$\frac{(25.157 - 24.602)}{25} \times 10^6 = 22\,200 \frac{mg}{L}$$

REPETICIÓN 3

$$\frac{(25.145 - 24.596)}{25} \times 10^6 = 21960 \frac{mg}{L}$$

REPETICIÓN 4.

$$\frac{(25.149 - 24.601)}{25} \times 10^6 = 21920 \frac{mg}{L}$$

Promedio.

$$X = \frac{23480 + 22200 + 21960 + 21920}{4} = 22390 \frac{mg}{L}$$

- **Sólidos Disueltos mg/L**

REPETICIÓN 1

$$\frac{(24.598 - 24.275)}{25} \times 10^6 = 12920 \frac{mg}{L}$$

REPETICIÓN 2.

$$\frac{(24.714 - 24.28)}{25} \times 10^6 = 17360 \frac{mg}{L}$$

REPETICIÓN 3

$$\frac{(24.619 - 24.271)}{25} \times 10^6 = 13920 \frac{mg}{L}$$

REPETICIÓN 4.

$$\frac{(24.599 - 24.275)}{25} \times 10^6 = 12960 \frac{mg}{L}$$

Promedio.

$$X = \frac{12920 + 17360 + 13920 + 12960}{4} = 14290 \frac{mg}{L}$$

- **Sólidos suspendidos mg/L**

$$SS \frac{mg}{L} = ST - SD$$

$$22390 - 14290 = 8100 \frac{mg}{L}$$

## ANEXO B.

### ESPECTRO IR PARA EXTRACCIÓN CON ETANOL REPETICIÓN 2.

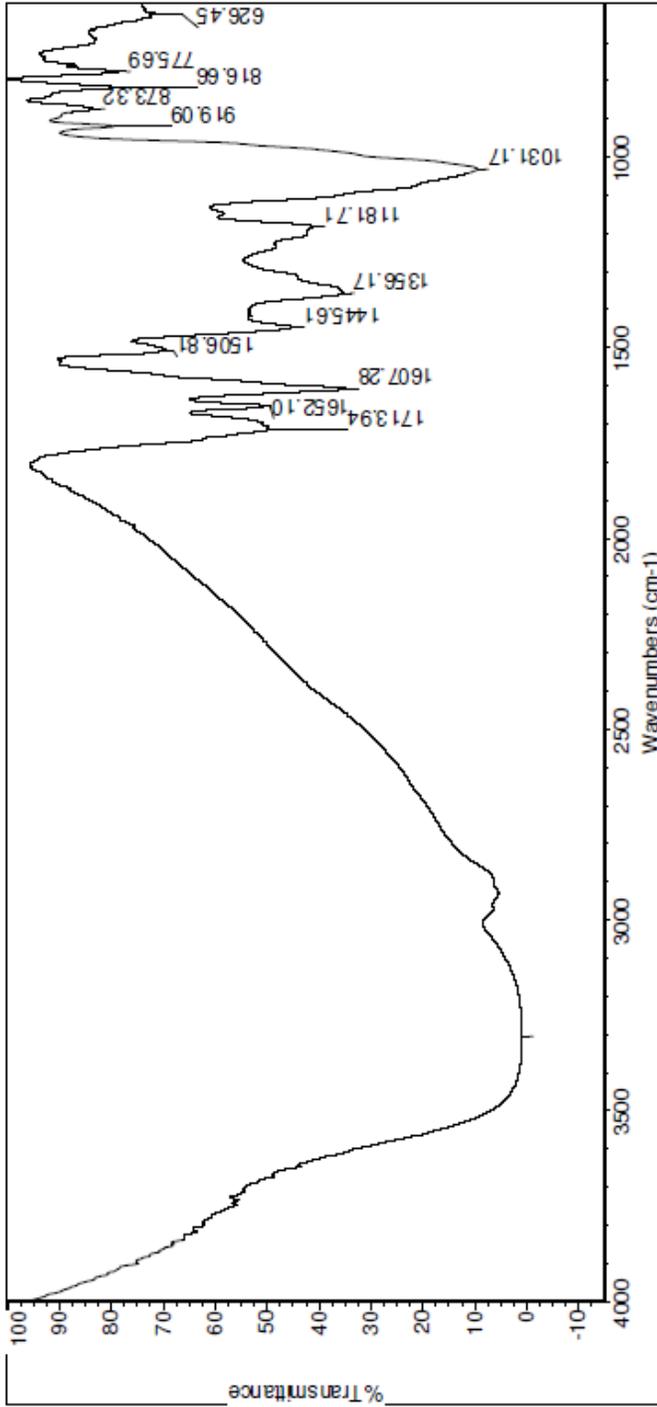
#### ARE ETANOL

NOMBRE: Barbara Moreno Murillo

CODIGO:



FACULTAD DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
COORDINACIÓN DE EXTENSIÓN Y SERVICIOS



Tue Aug 21 18:49:25 2018 (GMT-05:00)

Método de análisis: Pastilla KBr  
Nicollet IS10 Spectrometer  
Thermo Fisher Scientific

OBSERVACIONES:

## ANEXO C

# CERTIFICADO DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO PARA ELHIDROLATO CONCENTRADO



CERTIFICADO DE ANALISIS MICROBIOLÓGICO			
Cliente:	FINCA LAURASIA	Análisis N°:	18H7112-M
Producto / Materia Prima:	HIDROLATO DE ROSAS (TE DE PETALOS)	Fecha de Recepción	2018-08-06
Lote N°:	024A-31-07-2018 F.F. 31-07-2018	Fecha de Análisis	2018-08-06
Presentación Comercial	FRASCO MUESTREO	Cantidad enviada	1 Unidad Pg 1/1

### COLIFORMES TOTALES

METODO:	Siembra en medio selectivo. USP 41 NF 36
FECHA DE LECTURA:	2018-08-09
TIEMPO DE INCUBACION:	72 horas
RESULTADO:	AUSENTES
ESPECIFICACION:	AUSENCIA

### *Escherichia coli*

METODO:	Siembra en medio selectivo. USP 41 NF 36
FECHA DE LECTURA:	2018-08-09
TIEMPO DE INCUBACION:	72 horas
RESULTADO:	AUSENTE
ESPECIFICACION:	AUSENCIA

### CONTROLES

CONTROLES NEGATIVOS DE LOS MEDIOS DE CULTIVO	Ausencia de crecimiento microbiano
AGAR CHROMOCULT	Positivo. Inoculado con <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739

CONCEPTO: **CUMPLE**

OBSERVACIONES: Resultado válido sobre muestra enviada. Datos primarios libro N° 33 Pág.61.

\_\_\_\_\_  
Carlos M. Bustos Bolívar Q.F.- U.N  
Director Técnico

Este certificado no podrá ser reproducido parcial o totalmente sin autorización escrita de TECMOL FARMACEUTICA S.A.S.

## ANEXO D

### FORMATO DE CALIFICACIÓN PARA DEFINIR EL PERFIL ORGANOLÉPTICO DEL HIDROLATO CONCENTRADO.

**NOMBRE:**

**FECHA:**

**NOMBRE DEL PRODUCTO:** HIDROLATO DE ROSAS.

Frente a usted hay una muestra de Hidrolato de rosas, la cual procederá a probar describiendo las características de sabor. Marque con una X sobre la casilla del término que más describe lo percibido respecto a sabor teniendo en cuenta la escala anexada.

SABOR	0	1	2	3
Dulce				
Acido				
Amargo				
Fermentado				
Afrutado				
Astringente				
Picante				
Metálico				

Escala de Intensidad: 0=Ausencia Total. 1=Ligero(a). 2=Alta. 3=Extrema.

**Acido:** Gusto básico. Presente en frutas cítricas (limones, naranjas), en el vinagre y ciruelas.

**Amargo:** Gusto básico. Presente en el café, cerveza y vegetales como las aceitunas.

**Dulce:** Gusto básico. Presente en alimentos con bastante azúcar, repostería, confites y bebidas gaseosas.

**Astringente:** Sensación de sequedad en la boca producida por alimentos tales como el vino tinto, algunas frutas no maduras.

**Fermentado:** Característico de los frutos fermentados, verduras o azúcares, podridos o estropeados.

**Frutal:** Típico de sabores de frutas, sensación aromática.

**Metálico:** Olor y sabor característico de los metales. Presente en alimentos que son enlatados.

**Picante:** Sensación de ardor agudo producido por productos como los pimientos picantes y la cebolla.

Marque con una X sobre la casilla del término que más describe lo percibido respecto al olor teniendo en cuenta la escala anexada.

Olor	0	1	2	3
<b>Fragante /Floral</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Leñoso /Resinoso</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Frutal</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Mentolado</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Ahumado</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Cítrico</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Dulce</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Acre /Rancio</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Escala de Intensidad: 0=Ausencia Total. 1=Ligero(a). 2=Alta. 3=Extrema.

**Fragante o floral:** Olor de las flores y de los perfumes, bastante aromático.

**Leñoso o resinoso:** El olor de los pinos o el de la hierba recién cortada.

**Frutal:** Olor de frutas aromáticas no cítricas.

**Mentolado o refrescante:** El olor del eucalipto, menta, yerbabuena o del alcanfor.

**Dulce:** los olores del caramelo, la vainilla o el chocolate.

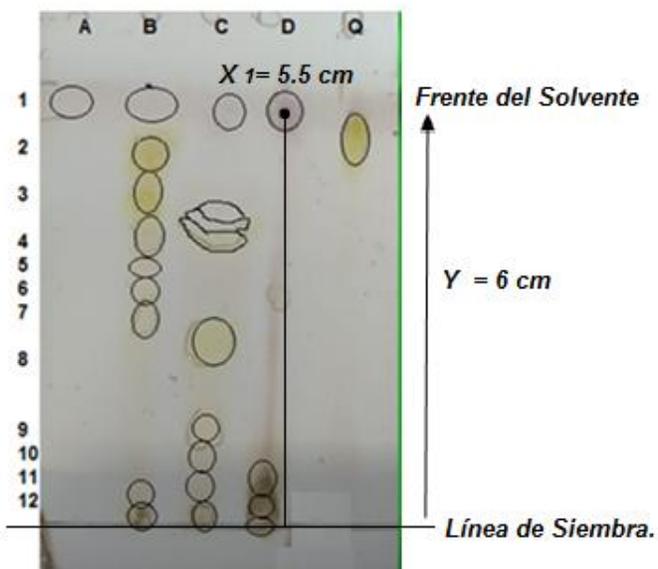
**Quemado o ahumado:** Olor similar al producido por la cocción de palomitas de maíz, combustión de materia seca.

**Cítrico:** Olor característico de frutos cítricos como el limón o la naranja.

**Acre o rancio:** Olores ásperos y penetrantes como el del vinagre o el ajo.

## ANEXO E.

### PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DEL Rf PARA TLC.



$$Rf \text{ Banda 1 Extracto D} = \frac{x_n}{y} = \frac{5.5 \text{ cm}}{6 \text{ cm}} = 0.92$$

X cm de Cada banda para cada extracto y Patrón quercetina.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	5.5											
<b>B</b>	5.5	4.9	4.5	4	3.2	2.7	2.2				0.6	0.1
<b>C</b>	5.5			4				2.3	1.2	0.9	0.6	0.1
<b>D</b>	5.5									0.9	0.5	0.1
<b>Quercetina</b>	5.2											

Rf					
Banda	A	B	C	D	Quercetina
<b>1</b>	0.92	0.92	0.92	0.92	0.87
<b>2</b>	NA	0.82	NA	NA	NA
<b>3</b>	NA	0.75	NA	NA	NA
<b>4</b>	NA	0.67	0.67	NA	NA
<b>5</b>	NA	0.53	NA	NA	NA
<b>6</b>	NA	0.45	NA	NA	NA
<b>7</b>	NA	0.37	NA	NA	NA
<b>8</b>	NA	NA	0.38	NA	NA
<b>9</b>	NA	NA	0.2	NA	NA
<b>10</b>	NA	NA	0.15	0.2	NA
<b>11</b>	NA	0.10	0.1	0.1	NA
<b>12</b>	NA	0.02	0.02	0.02	NA

## ANEXO F.

### OPERACIONES INVOLUCRADAS EN LA COSTRUCCIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN.

Concentración Final (Eje x de la curva)

Sln madre Quercetina (mL)	MeOH (mL)	Concentración final
0.06	9.94	0.03
0.13	9.87	0.065
0.25	9.75	0.125
0.5	9.5	0.25
1	9	0.5

$$V_1 * C_1 = V_2 * C_2$$

Donde:

$V_1$ : Volumen de la Sln madre Usada en la muestra.

$C_1$ : Concentración de solución madre, 5mg de Quercetina / mL de Acetona.

$V_2$ : Volumen de la muestra a preparar, 10 mL.

$C_2$ : Concentración Final muestra para medir Absorbancia.

Despejando  $C_2$  (Concentración final)

$$C_2 = \frac{V_1 * C_1}{V_2}$$

Para 0.06. mL de Solución madre:

$$\frac{0.06 * 5}{10} = 0.03 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$$

## ANEXO G

### CERTIFICADO DE ENSAYO FISIQUÍMICO PARA EL EXTRACTO ACUOSOS DE ESTEVIA.



ENSAYO FISIQUÍMICO			
Cliente:	FINCA LAURASIA	Análisis N°:	19H7112-F
Producto / Materia Prima:	EXTRACTO ACUOSO DE ESTEVIA.	Fecha de Recepción	2019-01-11
Lote N°:		Fecha de Análisis	2019-01-11
Presentación Comercial	FRASCO MUESTREO	Cantidad enviada	1 Unidad Pg 1/1

ANALISIS	RESULTADOS	UNIDADES.	MIN.	MAX.	MÉTODO.
°Brix	4.81	°Bx	No aplica		Refractometria 20°C
pH	5.02		No aplica		
Acidez	0.2	% Ácido cítrico.	No aplica		Acidez titulable.

CONCEPTO: Información de la muestra analizada.

OBSERVACIONES: Resultado válido sobre muestra enviada. Datos primarios libro N° 33 Pág.61.

Carlos M. Bustos Bolívar Q.F- U.N  
Director Técnico

Este certificado no podrá ser reproducido parcial o totalmente sin autorización escrita de TECMOL FARMACEUTICA S.A.S.

FOR-DMB-003-02

## ANEXO H

### FORMATO DE EVALUACIÓN ESCALA JAR PARA DEFINIR EL PORCENTAJE DE ENDULZANTE A USAR EN LA BEBIDA FINAL.

#### Evaluación de Intensidad de Dulce escala JAR.

**NOMBRE:**

**FECHA:**

**NOMBRE DEL PRODUCTO:** Bebida Funcional a base de hidrolato de rosas

Frente a usted hay 3 muestras identificadas como A, B y C, cada una con una intensidad de DULCE diferente. Seleccione con una X la afirmación que mejor se adapte a lo percibido.

Muestra A.

Demasiado bajo en dulce para mi gusto.	Algo bajo en Dulce para mi gusto.	Justo como me gusta	Algo Dulce para mi Gusto	Demasiado dulce para mi gusto
1	2	3	4	5

Muestra B.

Demasiado bajo en dulce para mi gusto.	Algo bajo en Dulce para mi gusto.	Justo como me gusta	Algo Dulce para mi Gusto	Demasiado dulce para mi gusto
1	2	3	4	5

⊕ Muestra C.

Demasiado bajo en dulce para mi gusto.	Algo bajo en Dulce para mi gusto.	Justo como me gusta	Algo Dulce para mi Gusto	Demasiado dulce para mi gusto
1	2	3	4	5

Recomendación: Una vez realizada la cata de la muestra consuma un poco de pan y beba un sorbo de agua para limpiar el paladar. Prosiga con el análisis de la siguiente muestra.

## ANEXO I

### ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LA BEBIDA TIPO TÉ FINALIZADA PARA UN PERIODO DE 1 MES.



ENSAYO FÍSICOQUÍMICO				
Cliente:	FINCA LAURASIA	Análisis N°:	22H7112-F	
Producto / Materia Prima:	BEBIDA TIPO TÉ	Fecha de Recepción	2019-01-18	
Lote N°:		Fecha de Análisis	2019-01-18	
Presentación Comercial	FRASCO MUESTREO	Cantidad enviada	1 Unidad	Pg 1/1

ENSAYO 1: 14 DE ENERO 2019

ENSAYO 2: 28 DE DICIEMBRE DE 2019

ENSAYO 3: 14 DE DICIEMBRE 2018

ANÁLISIS	RESULTADOS			UNIDADES.	MÉTODO.
	ENSAYO 1	ENSAYO 2	ENSAYO 3		
°Brix	3	3.2	3.2	°Bx	Refractometría 20°C
pH	5	5	5.02		
Acidez	0.22	0.22	0.2	% Ácido cítrico.	Acidez titulable.

CONCEPTO: Información de la muestra analizada.

OBSERVACIONES: Resultado válido sobre muestra enviada. Datos primarios libro N° 33 Pág. 61.

Carlos M. Bustos Bolívar Q.F.-U.N.  
Director Técnico

Este certificado no podrá ser reproducido parcial o totalmente sin autorización escrita de TECMOL FARMACÉUTICA S.A.S.

FOR-DMB-003-02

## ANEXO J

# ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA TIPO TÉ FINALIZADA PARA UN PERIODO DE 1 MES.



ENSAYO No. 15.591

RT 040

V 001

1 de 1

<b>EMPRESA:</b>	NO APLICA	<b>CONTACTO:</b>	Laura Daniela Contreras.
<b>DIRECCION:</b>	NO APLICA	<b>TELEFONO:</b>	3143972378
<b>CIUDAD:</b>	BOGOTÁ	<b>e-mail:</b>	laura.contreras@estudiantes.uamerica.edu.co
<b>MUESTRA:</b>	HIDROLATO DE ROSAS TIPO TE		
<b>LUGAR:</b>	ENTREGA EN LABORATORIO		
<b>AREA DE TOMA:</b>	NO APLICA	<b>FECHA FABRICACION:</b>	14 DE DICIEMBRE 2018
<b>PUNTO DE CAPTACIÓN:</b>	NO APLICA	<b>FECHA VENCIMIENTO:</b>	NO ESPECIFICADO
<b>LOTE:</b>	061115	<b>PROVEEDOR:</b>	
<b>PRESENTACION:</b>	BOTELLA DE VIDRIO	<b>TEMPERATURA DE TOMA:</b>	18°C
<b>CANTIDAD:</b>	2 UNIDADES X 300 mL	<b>MUESTRA ENTREGADA POR:</b>	
<b>FECHA DE MUESTREO:</b>	22 DE ENERO DE 2019	<b>OBSERVACIONES:</b>	ENSTABILIDAD ENSAYO INICIAL
<b>FECHA DE ANALISIS:</b>	22 DE ENERO 2019		
<b>FECHA ENTREGA RESULTADOS:</b>	29 DE ENERO DE 2019		

### INFORME DE ENSAYO MICROBIOLÓGICO MUESTRA No. 15.591

ANÁLISIS	RESULTADO	UNIDADES	ESPECIFICACIONES	METODO
Recuento Aerobios Mesofilos	<10	UFC/g	100 UFC/g	Siembra en Profundidad
NMP Coliformes Totales	<3	NMP/g	<3 NMP/g	Numero Mas Probable
Recuento E. coli	<10	UFC/g	<10 UFC/g	Identificación Bioquímica
Recuento Mohos	<10	UFC/g	<10 UFC/g	Siembra en Profundidad
Recuento Levaduras	<10	UFC/g	<10 UFC/g	Siembra en Profundidad

UFC: Unidades Formadoras de Colonia

Resolucion 4150 de 2009 reglamento Tecnico Bebidas Energizantes Para Consumo Humano

**CONCEPTO: LA MUESTRA ANALIZADA CUMPLE CON LOS PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS ESTABLECIDOS**

RESULTADOS VALIDOS UNICAMENTE SOBRE LA MUESTRA ANALIZADA

PROHIBIDA LA REPRODUCCION TOTAL O PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACION DE AQUALITY LAB S.A.S

Dirección Técnica  
Claudia Cabrera Sanchez

aqualitylab@yahoo.com.co  
Av. Cra. 68 No. 45-14 P2 L 202

Tel: 3 15 13 58

## ANEXO K.

### ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DE LA MAQUINARIA.

Equipo.	Imagen.	Especificaciones técnicas.																																																																	
<p><b>Caldera generadora de vapor a gas.</b></p>		<p><b>Quick Details</b></p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%;">Condition: New</td> <td style="width: 50%;">Type: Natural Circulation</td> </tr> <tr> <td>Usage: Industrial</td> <td>Structure: Water Tube</td> </tr> <tr> <td>Pressure: Low Pressure</td> <td>Style: Vertical</td> </tr> <tr> <td>Fuel: Gas-fired</td> <td>Place of Origin: Jiangsu, China (Mainland)</td> </tr> <tr> <td>Brand Name: WILFORD</td> <td>Model Number: LSS</td> </tr> <tr> <td>Output: Steam</td> <td>Dimension(L*W*H): Models</td> </tr> <tr> <td>Weight: Models</td> <td>Certification: ASME,ISO,SGS</td> </tr> <tr> <td>After-sales Service: Engineers available to service machinery overseas</td> <td>steam boiler safe: yes</td> </tr> <tr> <td>operation: auto</td> <td>type of fuel: natural gas ,pipeline gas, diesel oil</td> </tr> <tr> <td>rated evaporation: 50-100kg/h</td> <td>rated working pres... 0.7MPa</td> </tr> <tr> <td>steam temp: 170dgr</td> <td>type of boiler: steam boiler for laboratory industry</td> </tr> <tr> <td>process type: water</td> <td>manufacturing cap... factory</td> </tr> <tr> <td>processing: sterilizer</td> <td></td> </tr> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th>Type</th> <th>Unit</th> <th>LSS0.05-0.7-YQ</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Rated evaporation</td> <td>kg/h</td> <td>50</td> </tr> <tr> <td>Rated working pressure</td> <td>MPa</td> <td>0.7</td> </tr> <tr> <td>Saturated steam temperature</td> <td>°C</td> <td>170</td> </tr> <tr> <td>Water capacity</td> <td>L</td> <td>29</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">Fuel consumption</td> <td>Light diesel oil</td> <td>kg/h 3.5</td> </tr> <tr> <td>Natural gas</td> <td>Nm<sup>3</sup>/h 3.5</td> </tr> <tr> <td>Liquefied gas</td> <td>Nm<sup>3</sup>/h 1.5</td> </tr> <tr> <td>Pipeline gas</td> <td>Nm<sup>3</sup>/h 8.5</td> </tr> <tr> <td>Main steam valve diameter</td> <td>DN</td> <td>15</td> </tr> <tr> <td>Safety valve diameter</td> <td>DN</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>In fall diameter</td> <td>DN</td> <td>15</td> </tr> <tr> <td>Seavage valve diameter</td> <td>DN</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>Chimney diameter</td> <td>DN</td> <td>80</td> </tr> </tbody> </table>	Condition: New	Type: Natural Circulation	Usage: Industrial	Structure: Water Tube	Pressure: Low Pressure	Style: Vertical	Fuel: Gas-fired	Place of Origin: Jiangsu, China (Mainland)	Brand Name: WILFORD	Model Number: LSS	Output: Steam	Dimension(L*W*H): Models	Weight: Models	Certification: ASME,ISO,SGS	After-sales Service: Engineers available to service machinery overseas	steam boiler safe: yes	operation: auto	type of fuel: natural gas ,pipeline gas, diesel oil	rated evaporation: 50-100kg/h	rated working pres... 0.7MPa	steam temp: 170dgr	type of boiler: steam boiler for laboratory industry	process type: water	manufacturing cap... factory	processing: sterilizer		Type	Unit	LSS0.05-0.7-YQ	Rated evaporation	kg/h	50	Rated working pressure	MPa	0.7	Saturated steam temperature	°C	170	Water capacity	L	29	Fuel consumption	Light diesel oil	kg/h 3.5	Natural gas	Nm <sup>3</sup> /h 3.5	Liquefied gas	Nm <sup>3</sup> /h 1.5	Pipeline gas	Nm <sup>3</sup> /h 8.5	Main steam valve diameter	DN	15	Safety valve diameter	DN	20	In fall diameter	DN	15	Seavage valve diameter	DN	20	Chimney diameter	DN	80
Condition: New	Type: Natural Circulation																																																																		
Usage: Industrial	Structure: Water Tube																																																																		
Pressure: Low Pressure	Style: Vertical																																																																		
Fuel: Gas-fired	Place of Origin: Jiangsu, China (Mainland)																																																																		
Brand Name: WILFORD	Model Number: LSS																																																																		
Output: Steam	Dimension(L*W*H): Models																																																																		
Weight: Models	Certification: ASME,ISO,SGS																																																																		
After-sales Service: Engineers available to service machinery overseas	steam boiler safe: yes																																																																		
operation: auto	type of fuel: natural gas ,pipeline gas, diesel oil																																																																		
rated evaporation: 50-100kg/h	rated working pres... 0.7MPa																																																																		
steam temp: 170dgr	type of boiler: steam boiler for laboratory industry																																																																		
process type: water	manufacturing cap... factory																																																																		
processing: sterilizer																																																																			
Type	Unit	LSS0.05-0.7-YQ																																																																	
Rated evaporation	kg/h	50																																																																	
Rated working pressure	MPa	0.7																																																																	
Saturated steam temperature	°C	170																																																																	
Water capacity	L	29																																																																	
Fuel consumption	Light diesel oil	kg/h 3.5																																																																	
	Natural gas	Nm <sup>3</sup> /h 3.5																																																																	
	Liquefied gas	Nm <sup>3</sup> /h 1.5																																																																	
	Pipeline gas	Nm <sup>3</sup> /h 8.5																																																																	
Main steam valve diameter	DN	15																																																																	
Safety valve diameter	DN	20																																																																	
In fall diameter	DN	15																																																																	
Seavage valve diameter	DN	20																																																																	
Chimney diameter	DN	80																																																																	
<p><b>Intercambiador de calor de tubos y coraza.</b></p>		<p><b>Specifications</b></p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%;">Warranty: 12 months</td> <td style="width: 50%;">After-sales Service: Video technical support, Field installation, commissioning an...</td> </tr> <tr> <td>Condition: New</td> <td>Place of Origin: Guangdong, China (Mainland)</td> </tr> <tr> <td>Brand Name: FINN</td> <td>Structure: Tube Heat Exchanger</td> </tr> <tr> <td>Voltage: 220V/380V</td> <td>Dimension(L*W*H): Customized Made</td> </tr> <tr> <td>Certification: CCC, CE, CSA, ROHS, Other</td> <td>Color: Back, silver</td> </tr> <tr> <td>Material: Stainless steel</td> <td>Power range: 2 KW, 4 KW, 6 KW, 7 KW, 12 KW</td> </tr> <tr> <td>Size: 135*75*75mm, 155*75*75mm, 210*75*75mm, 445*75*75mm</td> <td>Package: Plastic film+carton</td> </tr> </table> <p><b>Working principle of exchanger:</b>  heat exchanger is the equipment that transfers part of heat flow of hot fluid to cold flow, the cold fluid goes inside the tube, the hot fluid goes outside through the baffle, and the cold and hot fluid goes through the interwall heat transfer</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Model</th> <th rowspan="2">Power (kW)</th> <th rowspan="2">Heat Water Flow (l/min)</th> <th rowspan="2">Cold Water Flow (l/min)</th> <th colspan="2">Heat Transference</th> <th rowspan="2">Length (mm)</th> </tr> <tr> <th>SWFT</th> <th>(m2)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>MF80</td> <td>2</td> <td>2</td> <td>15</td> <td>2.0</td> <td>0.10</td> <td>310</td> </tr> </tbody> </table>	Warranty: 12 months	After-sales Service: Video technical support, Field installation, commissioning an...	Condition: New	Place of Origin: Guangdong, China (Mainland)	Brand Name: FINN	Structure: Tube Heat Exchanger	Voltage: 220V/380V	Dimension(L*W*H): Customized Made	Certification: CCC, CE, CSA, ROHS, Other	Color: Back, silver	Material: Stainless steel	Power range: 2 KW, 4 KW, 6 KW, 7 KW, 12 KW	Size: 135*75*75mm, 155*75*75mm, 210*75*75mm, 445*75*75mm	Package: Plastic film+carton	Model	Power (kW)	Heat Water Flow (l/min)	Cold Water Flow (l/min)	Heat Transference		Length (mm)	SWFT	(m2)	MF80	2	2	15	2.0	0.10	310																																			
Warranty: 12 months	After-sales Service: Video technical support, Field installation, commissioning an...																																																																		
Condition: New	Place of Origin: Guangdong, China (Mainland)																																																																		
Brand Name: FINN	Structure: Tube Heat Exchanger																																																																		
Voltage: 220V/380V	Dimension(L*W*H): Customized Made																																																																		
Certification: CCC, CE, CSA, ROHS, Other	Color: Back, silver																																																																		
Material: Stainless steel	Power range: 2 KW, 4 KW, 6 KW, 7 KW, 12 KW																																																																		
Size: 135*75*75mm, 155*75*75mm, 210*75*75mm, 445*75*75mm	Package: Plastic film+carton																																																																		
Model	Power (kW)	Heat Water Flow (l/min)	Cold Water Flow (l/min)	Heat Transference		Length (mm)																																																													
				SWFT	(m2)																																																														
MF80	2	2	15	2.0	0.10	310																																																													
<p><b>Filtro de prensa</b></p>		<p><b>Quick Details</b></p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%;">Condition: New</td> <td style="width: 50%;">Automatic Grade: Semi-Automatic</td> </tr> <tr> <td>Place of Origin: Henan, China (Mainland)</td> <td>Brand Name: MINGHUA</td> </tr> <tr> <td>Voltage: 380V</td> <td>Power(W): 1.5KW</td> </tr> <tr> <td>Weight: 410kg</td> <td>Dimension(L*W*H): 1200*760*650</td> </tr> <tr> <td>Certification: ISO9001</td> <td>Warranty: 12 Months</td> </tr> <tr> <td>After-sales Service: Free spare parts</td> <td>Rating filtration pre... 1Mpa</td> </tr> <tr> <td>Cubage of filter cha... 13L</td> <td>Filter plate material: Cast iron, Polypropylene</td> </tr> <tr> <td>Size of the plate: 320*320 (mm)</td> <td>Filtering area: 1m2</td> </tr> <tr> <td>Type: jack filter press</td> <td>Application: Sewage Treatment</td> </tr> <tr> <td>Material: Carbon Steel</td> <td>Description: Solid-liquid Separation Machine</td> </tr> <tr> <td>Function: Filtration</td> <td></td> </tr> </table>	Condition: New	Automatic Grade: Semi-Automatic	Place of Origin: Henan, China (Mainland)	Brand Name: MINGHUA	Voltage: 380V	Power(W): 1.5KW	Weight: 410kg	Dimension(L*W*H): 1200*760*650	Certification: ISO9001	Warranty: 12 Months	After-sales Service: Free spare parts	Rating filtration pre... 1Mpa	Cubage of filter cha... 13L	Filter plate material: Cast iron, Polypropylene	Size of the plate: 320*320 (mm)	Filtering area: 1m2	Type: jack filter press	Application: Sewage Treatment	Material: Carbon Steel	Description: Solid-liquid Separation Machine	Function: Filtration																																												
Condition: New	Automatic Grade: Semi-Automatic																																																																		
Place of Origin: Henan, China (Mainland)	Brand Name: MINGHUA																																																																		
Voltage: 380V	Power(W): 1.5KW																																																																		
Weight: 410kg	Dimension(L*W*H): 1200*760*650																																																																		
Certification: ISO9001	Warranty: 12 Months																																																																		
After-sales Service: Free spare parts	Rating filtration pre... 1Mpa																																																																		
Cubage of filter cha... 13L	Filter plate material: Cast iron, Polypropylene																																																																		
Size of the plate: 320*320 (mm)	Filtering area: 1m2																																																																		
Type: jack filter press	Application: Sewage Treatment																																																																		
Material: Carbon Steel	Description: Solid-liquid Separation Machine																																																																		
Function: Filtration																																																																			

<p><b>Filtro de Bolsa</b></p>		<table border="1"> <thead> <tr> <th>Medio Filtrante</th> <th>Poro (µm)</th> <th>Superficie</th> <th>Tamaño**</th> <th>Collar</th> <th>Opciones</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>DFB PE = Polióstor</td> <td>1-200</td> <td>G*</td> <td>1</td> <td>S = Aro Galvanizado</td> <td>K= Cinta on banda</td> </tr> </tbody> </table> <p><b>Materiales aprobados por FDA/CE*</b></p> <p>Las bolsas filtrantes ACCUGAF en Polipropileno están construidas completamente con materiales que cumplen con las especificaciones de la FDA para aquellos productos que estén en contacto con productos alimenticios. Todos los materiales cumplen la US Code of Federal Regulations 21 CFR Part 177 y CE Directive 2002/72/EC.</p> <p><small>*Sólomente Polipropileno (AGF)</small></p> <p><b>Áreas de aplicación:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cervezas, vinos, licores y filtración de bebidas</li> <li>• Eliminación de finas partículas en procesos de lavado de piezas</li> <li>• Filtración final de barnices</li> <li>• Filtración final de vinagre</li> <li>• Eliminación de carbón activado</li> <li>• Filtración final de aceites hidráulicos y lubricantes</li> </ul> <p><b>Tabla 1: Especificaciones de los portabolsas</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Tipo de equipo</th> <th>01 MEB</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Conexiones de entrada/salida</td> <td>2" BSPT (macho)</td> </tr> <tr> <td>Conexiones de venteo</td> <td>1/4" BSP</td> </tr> <tr> <td>Conexiones de drenaje</td> <td>N/A</td> </tr> <tr> <td>Tamaño de las bolsas</td> <td>Tamaño 1 y 2</td> </tr> <tr> <td>Material del equipo</td> <td>Acero inoxidable 304 o 316L</td> </tr> </tbody> </table>	Medio Filtrante	Poro (µm)	Superficie	Tamaño**	Collar	Opciones	DFB PE = Polióstor	1-200	G*	1	S = Aro Galvanizado	K= Cinta on banda	Tipo de equipo	01 MEB	Conexiones de entrada/salida	2" BSPT (macho)	Conexiones de venteo	1/4" BSP	Conexiones de drenaje	N/A	Tamaño de las bolsas	Tamaño 1 y 2	Material del equipo	Acero inoxidable 304 o 316L
Medio Filtrante	Poro (µm)	Superficie	Tamaño**	Collar	Opciones																					
DFB PE = Polióstor	1-200	G*	1	S = Aro Galvanizado	K= Cinta on banda																					
Tipo de equipo	01 MEB																									
Conexiones de entrada/salida	2" BSPT (macho)																									
Conexiones de venteo	1/4" BSP																									
Conexiones de drenaje	N/A																									
Tamaño de las bolsas	Tamaño 1 y 2																									
Material del equipo	Acero inoxidable 304 o 316L																									
<p><b>Tanque mezclador.</b></p>		<p><b>Quick Details</b></p> <p>Condition: New</p> <p>Product Type: injection, eye drop or other liquids in pharmaceutical field</p> <p>Additional Capabili...temp., level, weight display&amp;record, alarm, SIP explosion-proo...</p> <p>Brand Name: SHANGHAI RITAI</p> <p>Max. Loading Capa... 10000L</p> <p>Power(W): 0.55~4.5KW</p> <p>Certification: ASME, PED 97/23/EC, NB, GB, ISO 9001:2008</p> <p>Material: SS316L&amp; SS304</p> <p>Agitator-bottom: bottom magnetic agitator, 50-800rpm</p> <p>Control points: rotation speed, temp, liquid as request</p> <p>Documents: DQ, IQ, OQ, PQ, FAT, SAT, Operation Manual, Drawing, etc</p> <p>After-sales Service ...Engineers available to service machinery overseas</p> <table border="1"> <tbody> <tr> <td>Mixer Type:</td> <td>Agitator</td> </tr> <tr> <td>Application:</td> <td>Liquid</td> </tr> <tr> <td>Place of Origin:</td> <td>Shanghai, China (Mainland)</td> </tr> <tr> <td>Model Number:</td> <td>RTYM</td> </tr> <tr> <td>Voltage:</td> <td>380V or others</td> </tr> <tr> <td>Dimension(L*W*H):</td> <td>N/A</td> </tr> <tr> <td>Type:</td> <td>mixing tank</td> </tr> <tr> <td>Usage:</td> <td>mixing injection, eye drop or other liquids in pharmaceutical fi...</td> </tr> <tr> <td>Volume:</td> <td>30L-10000L</td> </tr> <tr> <td>Validation:</td> <td>GMP, cGMP</td> </tr> <tr> <td>Warranty:</td> <td>1 Year</td> </tr> </tbody> </table>	Mixer Type:	Agitator	Application:	Liquid	Place of Origin:	Shanghai, China (Mainland)	Model Number:	RTYM	Voltage:	380V or others	Dimension(L*W*H):	N/A	Type:	mixing tank	Usage:	mixing injection, eye drop or other liquids in pharmaceutical fi...	Volume:	30L-10000L	Validation:	GMP, cGMP	Warranty:	1 Year		
Mixer Type:	Agitator																									
Application:	Liquid																									
Place of Origin:	Shanghai, China (Mainland)																									
Model Number:	RTYM																									
Voltage:	380V or others																									
Dimension(L*W*H):	N/A																									
Type:	mixing tank																									
Usage:	mixing injection, eye drop or other liquids in pharmaceutical fi...																									
Volume:	30L-10000L																									
Validation:	GMP, cGMP																									
Warranty:	1 Year																									
<p><b>Tanque extractor con chaqueta.</b></p>		<p><b>Quick Details</b></p> <p>Place of Origin: Zhejiang, China (Mainland)</p> <p>Application: Liquid</p> <p>After-sales Service ...Field installation, commissioning and training, Field maintena...</p> <p>Product name: Extractor tank</p> <p>Material: SS304,SS316L</p> <p>Process: Water</p> <p>discharge port: 400mm,500mm,600mm</p> <p>Extract pressure: vacuum-1MPa</p> <table border="1"> <tbody> <tr> <td>Brand Name:</td> <td>LENO</td> </tr> <tr> <td>Type:</td> <td>Extractor</td> </tr> <tr> <td>Warranty:</td> <td>1 Year</td> </tr> <tr> <td>Usage:</td> <td>water,oil,butane,herb</td> </tr> <tr> <td>Capacity:</td> <td>1L-20T</td> </tr> <tr> <td>certificate:</td> <td>CE ISO</td> </tr> <tr> <td>Extraction Type:</td> <td>Vaccum pressure Extraction</td> </tr> <tr> <td>voltage:</td> <td>220V,380V,440V</td> </tr> </tbody> </table>	Brand Name:	LENO	Type:	Extractor	Warranty:	1 Year	Usage:	water,oil,butane,herb	Capacity:	1L-20T	certificate:	CE ISO	Extraction Type:	Vaccum pressure Extraction	voltage:	220V,380V,440V								
Brand Name:	LENO																									
Type:	Extractor																									
Warranty:	1 Year																									
Usage:	water,oil,butane,herb																									
Capacity:	1L-20T																									
certificate:	CE ISO																									
Extraction Type:	Vaccum pressure Extraction																									
voltage:	220V,380V,440V																									

## BIBLIOGRAFÍA

ANAS ADIB Alshishani.*et al.* Salting-out assisted liquid-liquid extraction method coupled to gas chromatography for the simultaneous determination of thujones and pulegone in beverages. International journal of food properties 2017.

ANDERSEN Oyvind & MARKHAM Kenneth. Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications. 2005. Nueva Zelanda. P.59.

BLAINSKI, A. Y J. Palazzo de Mello. 2013. Application and analysis of the Folin Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules* 18: 6852-6865.

BONILLA, Andrés. Caracterización de los pigmentos antocianos en los primordios florales de *Miconia biappendiculata* y *Clusia multiflora* de un bosque andino. Trabajo de grado para obtener el título de biólogo. Universidad Pontificia Javeriana. Facultad de ciencias. Bogotá. 2002. p. 67

BRAVO Andrea. & ACUÑA William. Evaluación fitoquímica y determinación de flavonoides en hojas de *Ficus benjamina* L. [En línea] En: Revista Xilema.Vol 28, p.61-65. Consultado en: 30 de Octubre de 2017. Disponible en: <http://revistas.lamolina.edu.pe/index.php/xiu/article/viewFile/599/582><http://www.inocua.org/site/Archivos/libros/m%20evaluacion%20sensorial.pdf>.

CHOI, Eugenia & EMERTON Victoria. Essential Guide to Food Additives. Vol. 3rd ed. revised by Victoria Emerton and Eugenia Choi, Royal Society of Chemistry, 2008.

CORTEZ Shirley, ORTIZ Aristóteles & RAMIREZ Luz. Determinación de antioxidantes en subproductos de café producido y comercializado en Risaralda. Universidad tecnológica de Pereira, Colombia. . Citado el: 10 de enero de 2019. Disponible en: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/7597/63373C828.pdf?sequence>.

DING Shujing & DUDLEY. Bioanalysis of the flavonoid composition of herbal extracts and dietary supplements. New York: Nova Science Publishers, Inc. 2009. p. 301-305.

DOUGLAS, Skoog; DONALD, West & JAMES, Holler. Fundamentos de Química Analítica Vol. 2 (4ª ED).2001.

FERNÁNDEZ Isabel et al. Aplicación de las escalas de punto ideal o Just-About-Right (JAR) en análisis sensorial de alimentos. [En línea]. Consultado en: 10 de enero de 2019. Disponible en:

<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/104054/Fern%C3%A1ndez%3BGarc%C3%ADa%3BFuentes%20%20Aplicaci%C3%B3n%20de%20las%20escalas%20de%20punto%20ideal%20o%20JustAboutRight%20%28JAR%29%20en%20a....pdf?sequence=1>

FINCHER, J.; BEAMER, Robert L.; [Et al.] (1986). *Dictionary of pharmacy*. Columbia: University of South Carolina Press. ISBN 9780872494442.

GARCÍA-BENAVENTE O., MOLINA S. Antioxidantes en la salud, en la enfermedad y en la Alimentación: Alimentos Funcionales. [En línea]. Citado el: 30 de octubre de 2018. Disponible en:  
<https://www.um.es/lafem/Actividades/OtrasActividades/CursoAntioxidantes/MateriaIAuxiliar/2012-03-06-AntioxidantesSaludAlimentosFuncionales.pdf>.

GARCÍA Eva & FERNÁNDEZ Isabel. Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Departamento de Tecnología de Alimentos. ETSIAMN. Universitat Politècnica de València. 2009

GARCÍA-ALMEIDA, CASADO FDEZ M., GARCÍA J. Una visión global y actual de los edulcorantes. Aspectos de regulación. [En línea] 2013. Consultado en: 30 de octubre de 2017... Disponible en:  
<http://www.redalyc.org/Artículo.oa?id=309227005003>. 1699-5198.

GERSTNER Gerard. How to fortify Beverages with Calcium. En: *Food Marketing & Technology*. 2013  
HENECZKOWSKI M, KOPACZ M, NOWAK D and KUZNIAR. Infrared spectrum analysis of some flavonoids *Acta Pol.Pharm*. 2001. pp 58 415–20.

HERNANDEZ Elizabeth. Evaluación Sensorial. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. [En línea] 2005. Consultado en: 30 de octubre de 2017. Disponible en:  
<http://www.inocua.org/site/Archivos/libros/m%20evaluacion%20sensorial.pdf>.

HERNANDEZ, Rafael & MORENO, Barbara. Hacia una agricultura sostenible: La *Rosa centifolia* L., genotipo cultivado orgánico en Colombia y sus propiedades medicinales. En: *Revista Química e Industria*. Bogotá. Vol. XXIX, No. 1, septiembre 2017; p.15-23

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICA Y CERTIFICACIÓN, Compendio de normas para trabajos escritos. NTC-1486-6166. Bogotá D.C.: El instituto, 2019. ISBN 9789588585673 153 p.

INSTITUTO NACIONAL DE VIGILANCIA DE MEDICAMENTOS Y ALIMENTOS, INVIMA. Normatividad Institucional. Documentos INVIMA. Leyes. [En línea].

Consultado en: 02 de julio de 2018. Disponible en: <https://www.invima.gov.co/leyes-en-normatividad-institucional.html>.

JAHAGIRDAR, S.S, *et al.* Comparative Study of Water Quality Parameters of Different Brands of soft Drinks. En: IOSR Journal of Mechanical and Civil Engineering (IOSR-JMCE), Innovation in engineering science and technology. P.148. e-ISSN: 2278-1684, p-ISSN: 2320-334X

KARAKALA Balasawy, [*Et al.*]Production of Low Calorie Ready to Serve Fruit Beverages Using a Natural Sweetener, Stevia (*Stevia Rebaudiana* L.) [En línea]. En: Focusing on Modern Food Industry (FMSI), 2014, vol. 3, p. 58. [Citado el: 30 de noviembre de 2018.]. <  
[https://www.researchgate.net/publication/269805580\\_Production\\_of\\_Low\\_Calorie\\_Ready-to-Serve\\_Fruit\\_Beverages\\_Using\\_a\\_Natural\\_Sweetener\\_Stevia\\_Stevia\\_Rebaudiana\\_L](https://www.researchgate.net/publication/269805580_Production_of_Low_Calorie_Ready-to-Serve_Fruit_Beverages_Using_a_Natural_Sweetener_Stevia_Stevia_Rebaudiana_L)>.

K. R MARKHAM .Techniques of flavonoid Identification. Nueva Zelanda: Academic Press, 1982 p.9.

K Karthika, S Jamuna & Paulsamy S. TLC and HPTLC Fingerprint Profiles of Different Bioactive Components from the Tuber of Solena amplexicaulis. En: Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2014.p., 198-206

MARTÍNEZ Alejandro. Iononas y Compuestos Relacionados. Antraquinonas. Medellín, Antioquia, Ed. Universidad De Antioquia, 2012.p.3.

Mercado de nutraceuticos superó la cifra de 200.000 millones de Dólares. En: Food News [En línea.] Consultado en: 02 de Julio de 2018. Disponible en: <http://www.foodnewlatam.com/paises/4964-europa/8105-nutraceuticals-europe-summit-y-expo-2019.html>

MÉXICO.NORMA OFICIAL DE ALIMENTOS NMX-F-527-1992. Por la cual se establece el protocolo para la Determinación de sólidos totales, sólidos disueltos y sólidos en suspensión en agua. [En línea]. Consultado en: 25 de noviembre de 2018. Disponible en: <https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-527-1992.PDF>.

Ministerio de Salud y Protección Social. Decreto Número 3249 de 2006: Por el cual se reglamenta la fabricación, comercialización, envase, rotulado o etiquetado, régimen de registro sanitario, de control de calidad, de vigilancia sanitaria y control sanitario de los suplementos dietarios, se dictan otras disposiciones y se deroga el Decreto 3636 de 2005.

OFFICE. Present your data in a radar chart. [En línea]. Consultado en: 2 de

noviembre de 2018. Disponible en: <https://goo.gl/jw2qk9>.

ROGER Kerin, STEVEN Hartley. Marketing. Novena Edición, de, McGraw-Hill Interamericana, 2009. Citado en: 31 de enero de 2019: p. 299

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE NUTRACÉUTICA MÉDICA. Nutracéuticos, Alimentos Funcionales, Complementos Alimenticios o suplementos dietéticos. [En línea]. 2013. Consultado: 27 de octubre de 2018. Disponible en: <http://www.nutraceuticamedica.org/definicion.htm>

SCHUTZ, H.G. Sources invalidity in the Sensory Evaluation of Food. En: Food Techn.

TENORIO, M. Flavonoids extracted from orange peelings tangelo (*Citrus reticulata* x *Citrus paradisi*) and their application as a natural antioxidant in sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) vegetable oil. *Scientia Agropecuaria*, 7(4), 419–431. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.04.07>

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.UNAM. Prácticas de Química: Cromatografía en Capa Fina. [En línea]. [Consultado: 20 de diciembre de 2018]. Disponible en Internet: <https://www.uam.es/docencia/jppid/documentos/practicas/actuales/guion-p6.pdf>

U.S. Department of Health & Human Services- National Institutes of Health Dietary. Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. En línea. Citado el: 25 de noviembre de 2018. Disponible en: [https://ods.od.nih.gov/Health\\_Information/Dietary\\_Reference\\_Intakes.aspx](https://ods.od.nih.gov/Health_Information/Dietary_Reference_Intakes.aspx)

