



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA
SALUD**

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

TESIS:

**“ELABORACIÓN DE UNA GELATINA EN POLVO
ENRIQUECIDA CON FLAVONOIDES OBTENIDOS DEL
MOSTO DE VINO DE VID (*Vitis vinífera*) VARIEDAD
BORGOÑA” – AREQUIPA 2017**

PRESENTADO POR LA BACHILLER:

RODRÍGUEZ HUAMÁN, CAROLINA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

AREQUIPA – PERU

2017

DEDICATORIA

El presente estudio primeramente lo dedico a Dios, por haberme permitido llegar a este momento tan especial de mi vida, por los triunfos y momentos difíciles que me enseñaron a ser más fuerte y valorar cada día su presencia en mi vida.

A mi familia, por haberme acompañado durante todo mi trayecto estudiantil y de vida, por su apoyo constante durante este arduo camino para poder convertirme en una profesional; gracias a sus consejos, sus desvelos y su comprensión he podido culminar mi carrera profesional.

AGRADECIMIENTO

Primeramente, agradezco a la Universidad Alas Peruanas por haberme permitido formar parte de ella, abriéndome las puertas y brindándome los conocimientos necesarios para poder estudiar mi carrera profesional.

A la directora de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas; Mg Q.F Alexandra Fernández Gambarini por su apoyo incondicional.

Gracias a todos mis docentes, que desde el primer día de clases me brindaron sus conocimientos y su apoyo para seguir adelante día a día.

Asimismo, gracias a todas las personas que hicieron posible la realización de este trabajo, con sus aportes, su generosidad y su gran voluntad de ayudarme con lo que podían, así como también darme las pautas para no rendirme y seguir buscando lo que necesitaba; muchas personas a las cuales ni siquiera conocía y me brindaron su apoyo.

Muchas gracias por todo, son personas que Dios puso en mi camino y les estaré eternamente agradecida.

RESUMEN

El presente estudio, expone los resultados de la elaboración de una gelatina en polvo, enriquecida con flavonoide Quercetina obtenido de la molienda del mosto de vino. Para la obtención del mosto, se elaboró un vino artesanal utilizando la uva variedad Borgoña, separando luego el vino del mosto (conjunto de cáscaras, fibras y semillas de la uva), guardando este último en un envase de vidrio debidamente rotulado para seguir con los análisis respectivos. Estos estudios se realizaron en los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas.

Al polvo de mosto obtenido, se procedió a evaluar las características organolépticas las cuales dieron como resultado: color morado, olor a uva fermentada, sabor amargo y textura granulada; el pH fue de 3,5, las cenizas fueron de 0,60 %, humedad de 11,81%.

Luego se procedió a reconocer los metabolitos secundarios, siendo el metabolito de interés, los flavonoides. Se realizó el estudio cualitativo de flavonoides aplicando el ensayo de Shinoda y el de ácido sulfúrico concentrado, dando como reacción el cambio de coloración a verde azulado y rojo respectivamente, propios del metabolito en estudio.

Posteriormente la evaluación cuantitativa se realizó utilizando un método Espectrofotométrico, obteniendo como resultado que en el mosto, se encontraron 38,53 mg de flavonoide quercetina por litro. Con este dato se determinó la cantidad de este polvo de mosto de vino que se debía agregar a la formulación de la gelatina para poder enriquecerla. Según cálculos, la cantidad requerida que se debía agregar fue de 16,61 g de polvo de la molienda de mosto por cada 180 g. de gelatina para poder

cumplir con la cantidad de Quercetina que requiere el cuerpo humano que es de 16 mg por día.

Luego de elaborar la gelatina, nuevamente se realizó el análisis espectrofotométrico para evaluar la presencia de quercetina en esta mezcla, obteniéndose como resultado que tenía 97,6 mg de quercetina por cada 180 g de polvo de gelatina, evidenciándose así, que el producto final si conservó la presencia de los flavonoides y se podría incluir en la dieta diaria.

También se realizaron estudios de los parámetros físicos obteniendo como resultados: pH 4,5; humedad 1,61 % y cenizas 0,36 %, dando valores aceptables según la Norma Técnica Peruana NTP 209-031:1985 y NTP 209-086:1981.

Seguidamente se procedió a efectuar la evaluación del producto terminado según los criterios que establece la norma sanitaria DIGESA NTS N°- MINS/DIGESA-V.01-2010, evidenciándose así la no presencia de microorganismos patógenos en el producto final, por lo cual, se concluyó que si cumplía con los parámetros de calidad para ser considerado como apto para el consumo humano.

Finalmente se realizó el etiquetado de la gelatina elaborada tomando en cuenta las características que establece la Norma Técnica Peruana NTP 209.038 2009.

Palabras clave: **Gelatina, Mosto de vid, Flavonoides, Espectrofotometría, DIGESA.**

ABSTRACT

The present study, exposes the results of the elaboration of a gelatin powder, enriched with flavonoid Quercetin obtained from the wine. To obtain the must, a wine was produced using the Burgundy grape variety, then separating the wine from the must (set of peels, fibers and seeds of the grape), keeping the wine in a glass container duly labeled to continue with the respective analyzes. These studies were carried out in the laboratories of The Alas Peruanas University.

The obtained must powder was used to evaluate the organoleptic characteristics which resulted in: purple color, fermented grape smell, bitter taste and appearance granulated the pH was 3.5, the ashes were 0.60%, humidity 11.81%.

Then, the secondary metabolites were recognized, the flavonoids being the metabolite of interest. The qualitative study of flavonoids was carried out applying the Shinoda and the concentrated sulfuric acid test, giving as reaction the change of coloration to bluish green and red respectively of the metabolite under study.

Subsequently the quantitative evaluation was performed using a method spectrophotometry, resulting in 38.53 mg in the must of flavonoid quercetina per liter. With this data it was determined the amount of this must of wine must be added to the formulation of the gelatine in order to be able to enrich it. According to calculations, the required quantity that had to be added was 16.61 g of powder from the milling of must for every 180 g. of gelatin to be able to meet the amount of Quercetin that the human body requires, which is 16 mg per day.

After elaborating the gelatin, again the spectrophotometry analysis was performed to evaluate the presence of flavonoid quercetin in this mixture, resulting in a 97,6 mg. of

quercetin per each 180 g. of gelatin powder, thus evidencing that the final product preserved the presence of flavonoids and could be included in the daily diet.

Physical parameters were also studied, obtaining as results: pH 4,5; humidity 1,61 % and ash 0,36 %, giving acceptable values according to the Peruvian Technical Norm NTP 209-031:1985 y NTP 209-086:1981.

The evaluation of the finished product was then carried out according to the criteria established by the DIGESA NTS N°-MINS/DIGESA-V.01–2010, sanitary standard resulting in the non-presence of pathogenic microorganisms in the final product, which concluded that if it complied with the quality parameters to be considered fit for human consumption.

Finally, the gelatin labeling was elaborated taking into account the characteristics established by Peruvian Technical Standard NTP 209.038 2009.

Key words: Gelatin, Vine must, Flavonoids, Spectrophotometry, DIGESA.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	vi
ÍNDICE DE CUADROS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiii
ÍNDICE DE ESQUEMAS.....	xiv
ÍNDICE DE IMÁGENES.....	xv
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xvi
INTRODUCCIÓN.....	xvii
CAPITULO I.....	1
PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO.....	1
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	1
1.2. Delimitaciones y definición del problema.....	2
1.2.1. Delimitaciones.....	2
1.2.2. Definición del problema.....	3
1.3. Formulación del problema a investigar.....	3
1.3.1. Subproblemas.....	3
1.4. Objetivos.....	4
1.4.1. Objetivo General.....	4
1.4.2. Objetivos Específicos.....	4
1.5. Variables e indicadores.....	5
1.6. Justificación e importancia de la investigación.....	6
1.7. Tipo y nivel de investigación.....	6
1.7.1. Tipo de Investigación.....	6

1.7.2. Nivel de Investigación	6
1.8. Método y diseño de la Investigación	7
1.8.1. Método de la Investigación.....	7
1.8.2. Diseño de la Investigación	27
1.9. Material e instrumentos.....	28
1.10. Cobertura del estudio.....	31
1.10.1. Unidad de estudio	31
CAPITULO II.....	32
MARCO TEÓRICO	32
2.1. Antecedentes Investigativos	32
2.2. Marco Conceptual.....	38
CAPITULO III.....	52
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS	52
3.1. Unidad de estudio	52
3.2. Tamaño de la muestra representativa.....	52
3.3. Análisis e interpretación de resultados.....	52
CAPITULO IV	64
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	64
CONCLUSIONES	64
RECOMENDACIONES.....	66
BIBLIOGRAFÍA.....	67
ANEXOS	72
GLOSARIO DE TÉRMINOS	95

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N° 1	: Operacionalización de las variables	5
Cuadro N° 2	: Insumos utilizados para elaborar la gelatina	13
Cuadro N° 3	: Criterios microbiológicos según DIGESA	17
Cuadro N° 4	: Determinación de características organolépticas del mosto.	53
Cuadro N° 5	: Identificación de Flavonoides en el mosto.....	53
Cuadro N° 6	: Determinación de las características fisicoquímicas del mosto de vino	56
Cuadro N° 7	: Formulación para elaborar la gelatina	57
Cuadro N° 8	: Determinación de los parámetros físicos de la gelatina.....	59
Cuadro N° 9	: Determinación de las características organolépticas.....	62
Cuadro N°10	: Resultados obtenidos en el análisis microbiológico.....	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1 : Biosíntesis de los flavonoides	44
Figura N° 2 : Molécula de quercetina	45
Figura N° 3 : Mosto u orujo de uva variedad Borgoña.....	47
Figura N° 4 : Mosto de vid	48
Figura N° 5 : Portada y contraportada de la etiqueta	58
Figura N° 6 : Laterales de la etiqueta.....	59

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1 : Curva patrón con la interpolación de la muestra del mosto de vino	55
Gráfico N° 2 : Curva patrón con la interpolación de la muestra de gelatina ..	61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1 : Resultados de lectura de espectrofotómetro de la sustancia patrón quercetina y del polvo de mosto de vino.....	54
Tabla N° 2 : Resultados de la concentración obtenida en la gelatina	60
Tabla N° 3 : Resultados de lectura de espectrofotómetro de la sustancia patrón quercetina y gelatina	61

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema N° 1: Metodología de trabajo	27
--	----

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen N° 1 : Acondicionamiento de la muestra para su secado en la estufa.....	72
Imagen N° 2 : Muestra seca obtenida para posterior molienda.....	72
Imagen N° 3 : Polvo obtenido de la molienda del mosto de vino.....	73
Imagen N° 4 : Muestra en la estufa para secado de mosto y determinación de humedad.....	73
Imagen N° 5 : Muestra en la mufla para determinación de cenizas.....	74
Imagen N° 6 : Muestra de ceniza obtenida	74
Imagen N° 7 : Reacción de Shinoda	75
Imagen N° 8 : Reacción con ácido sulfúrico.....	75
Imagen N° 9 : Muestras listas del polvo de mosto de vino para ser leída en el espectrofotómetro	76
Imagen N° 10 : Muestras listas de quercetina patrón para elaborar la curva de calibración en el espectrofotómetro	76
Imagen N° 11 : Lectura de la absorbancia del mosto de vino en el espectrofotómetro	77
Imagen N° 12 : Lectura del pH de la muestra de gelatina	77
Imagen N° 13 : Muestras listas de gelatina para leer su absorbancia	78
Imagen N° 14 : Espectrofotómetro con la absorbancia leída	78
Imagen N° 15 : Resultados del recuento en placa de agar Saboraud.....	79
Imagen N° 16 : Resultados del recuento en placa de agar Manitol Salado.....	79
Imagen N° 17 : Resultados de coliformes totales.....	80

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1 : Imágenes del proceso de investigación.....	72
Anexo N° 2 : Protocolo de Análisis de saborizante uva	81
Anexo N° 3 : Certificado de Análisis del Ácido Cítrico	82
Anexo N° 4 : Certificado de Análisis del Ácido Fumárico.....	83
Anexo N° 5 : Certificado de Análisis del colapiz	84
Anexo N° 6 : Certificado de Análisis del Acetato de Potasio.....	85
Anexo N° 7 : Norma Sanitaria DIGESA	86
Anexo N° 8 : Norma Técnica Peruana NTP 209.086:1981	87
Anexo N° 9 : Norma Técnica Peruana NTP 209.231:1985	88
Anexo N° 10 : Norma Ecuatoriana NTE INEN 1521 - 2005	89
Anexo N° 11 : Farmacognosia métodos y análisis de hierbas y drogas.....	90
Anexo N° 12 : Norma Sanitaria: R.M.N° 615-2003-SA/DM.....	91
Anexo N° 13 : Modelo de caja para empaquetar la gelatina	92
Anexo N° 14 : Norma Técnica Peruana NTP 209.038:2009	93
Anexo N° 15 : Tabla de Número Más Probable	94

INTRODUCCIÓN

La inadecuada alimentación es un tema de preocupación actual ya que sus efectos negativos, tienen repercusión tarde o temprano en la salud, muchos de estos efectos pueden deberse a la liberación de radicales libres dentro del organismo.

Los radicales libres están involucrados en el envejecimiento de nuestros órganos del cuerpo y además, pueden causar enfermedades o procesos asociados al daño oxidativo en las moléculas biológicas como: envejecimiento prematuro, enfermedades del corazón, diabetes, cataratas, cuadros inflamatorios crónicos, enfermedades neurodegenerativas.

Las frutas y todos los vegetales son, quizás los alimentos con mayor cantidad de micronutrientes y antioxidantes naturales altamente beneficiosos para la salud, ya que sobreviven a la intemperie, enfrentando todo tipo de condiciones y agresiones meteorológicas. Esto es posible gracias a las sustancias protectoras y antioxidantes naturales que poseen. Esas mismas sustancias son las que consumimos al ingerir el alimento, motivo por el cual es necesario, buscar como incluir en nuestra dieta todos los beneficios que nos aportan las frutas, en este caso, utilizando el mosto de vino de vid el cual contiene gran cantidad de antioxidantes y dentro de ellos a los FLAVONOIDES, los cuales nos permiten luchar contra los radicales libres.⁽¹⁾

A nivel biológico y fisiológico, la oxidación celular es el proceso de alimentación y desgaste de nuestras células. Nuestro principal combustible es el oxígeno, sin él, nuestras células son incapaces de sobrevivir. Pero este oxígeno que consumimos, no

⁽¹⁾ Vásquez L. VIX [Página principal de internet], España; [consultado el 30 de agosto del 2016]. Disponible en: <http://www.vix.com/es/btg/curiosidades/4335/que-son-los-radicales-libres>.

sólo sirve para producir energía en nuestras células, sino que un porcentaje de este, produce radicales libres.

Estos radicales libres se forman de manera habitual en el cuerpo al metabolizar el oxígeno, así que a la vez de alimentar nuestras células, el oxígeno de nuestra respiración nos está oxidando. ⁽²⁾ También se forman radicales libres por el metabolismo o por el sistema inmune para atacar virus y bacterias.

Hábitos o costumbres tan comunes como practicar ejercicio físico intenso, el consumo excesivo de tabaco y de dietas ricas en grasas saturadas (comida chatarra), la sobreexposición a las radiaciones solares, así como la contaminación ambiental, aumentan la producción de radicales libres.

El cuerpo maneja los radicales libres que se producen de forma natural, pero si la producción de los mismos es excesiva pueden producirse daños en el cuerpo. ⁽³⁾

Sin embargo, los compuestos antioxidantes tienen la capacidad de inhibir o interrumpir las reacciones de transformación que causan daños a nuestro organismo. ⁽⁴⁾

En el proceso de elaboración del vino, uno de los residuos que se obtiene después de haber realizado la fermentación, es el mosto u orujo (conjunto de cáscaras, fibra y semillas de la uva) que es desechado sin uso potencial, el cual debería ser aprovechado ya que tiene propiedades antioxidantes.

Este trabajo de tesis, se orienta a elaborar una gelatina que es un producto de fácil preparación y un postre que tiene buena aceptación tanto para niños como adultos, al que se agregará el polvo de la molienda de mosto de vino que le dará un valor agregado y que ayudará a mejorar la salud de las personas, ya que la uva es un alimento alcalinizante, además el extracto de la semillas de uva previene la aparición del cáncer como el de mama, próstata y colon, esto se da gracias al flavonoide que aparece en la piel de la uva llamado resveratrol.

⁽²⁾ Iglesias A. Centro Revidox para el estudio de la edad biológica [Página principal de internet], Alicante (España); [actualizado el 03 de julio del 2015 - consultado el 28 de agosto del 2016]. Disponible en <http://centrorevidox.com/que-es-la-oxidacion-celular/>.

⁽³⁾ Vid nota 1.

⁽⁴⁾ Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annual Review Nutrition*. University of London. 1996; 16(1):33-50.

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO

1.1. Descripción de la realidad problemática

En la actualidad hay un alto índice de enfermedades o procesos asociados al daño oxidativo en las moléculas biológicas como: envejecimiento prematuro, enfermedades del corazón, diabetes, cataratas, cuadros inflamatorios crónicos, enfermedades neurodegenerativas, motivo por el que la población se está preocupando cada vez más, de poder incluir en su dieta diaria, alimentos que puedan aportar los requerimientos diarios de flavonoides, la quercetina es el predominante con un valor medio de 16 mg/día, estando el mercado lleno de productos que poseen esta capacidad, pero enfocándose más que todo en el área de la belleza es decir en cremas tanto para el rostro y cuerpo, olvidándose que lo mejor es evitar el envejecimiento de las células dentro del organismo y así se reflejará también por fuera ya que nuestro mayor interés debe ser proteger nuestros órganos internos para tener una mejor calidad de vida.

Es debido a este auge que se está viviendo en nuestros días acerca de los alimentos y productos que tienen capacidad antioxidante y además con la cultura que se está aplicando de reciclaje, que nace el interés de crear este producto, utilizando un desecho que resulta de la elaboración del vino, el cual en nuestro medio es descartado sin un valor aparente pero por estudios realizados se observa que éste presenta en su composición flavonoides, los cuales brindan a nuestro organismo capacidad antioxidante, que permite luchar contra estos radicales libres y sus consecuencias.

1.2. Delimitaciones y definición del problema

1.2.1. Delimitaciones

- A. Delimitación Espacial:** El estudio se realizará, en la ciudad de Arequipa en los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas Filial Arequipa.
- B. Delimitación temporal:** El tiempo utilizado para la realización de la investigación fue de diez meses, iniciándose en el mes de Setiembre del 2016 y culminando en el mes de Julio del 2017.
- C. Delimitación social:** Beneficiar al público consumidor en general ya que al elaborar un producto muy comercial como es la gelatina, adicionándole los flavonoides que se encuentran tanto en la cáscara como en la semilla de la uva, dándole así una propiedad antioxidante; este producto se elaborará bajo la norma DIGESA NTS N°-MINSA/DIGESA-V.01–2010, la cual regula las condiciones requeridas por el producto en nuestro país, para que pueda ser considerado apto para el consumo humano.
- D. Delimitación Conceptual**
1. **Área:** Ciencias de la Salud.
 2. **Campo:** Farmacia y Bioquímica.
 3. **Línea:** Tecnología de los alimentos.
 4. **Tema General:** Preparación de una gelatina enriquecida con flavonoides.
 5. **Tema específico:** Elaboración de una gelatina en polvo enriquecida con flavonoides obtenidos del mosto de vino de Vid (*Vitis vinífera*) variedad Borgoña” – Arequipa 2017.

1.2.2. Definición del Problema

Actualmente se observa la presencia de enfermedades debido a la acumulación de radicales libres que están presentes en nuestro organismo y que amenazan la salud de la población debido a diversos factores, observándose un aumento en la incidencia de enfermedades o procesos asociados al daño oxidativo en las moléculas biológicas, es por ese motivo que en nuestro país se está dando preferencia a consumir frutas y verduras que poseen capacidad antioxidante, dado que tenemos una gran variedad de ellas en el mercado, las cuales son ricas en metabolitos secundarios, especialmente en Flavonoides.

El presente estudio se realizará con la finalidad de obtener un producto que contenga un valor adicional, como son los flavonoides, los cuales tienen una propiedad antioxidante ayudándonos a combatir los efectos producidos por los radicales libres, mediante la gelatina que es un postre muy aceptado.

1.3. Formulación del problema a investigar

¿Al elaborar y enriquecer la gelatina con el polvo de mosto de vino, conservará los flavonoides que se encuentran en éste?

1.3.1. Subproblemas

- 1.- ¿El polvo de mosto de vino al ser sometido a un proceso de secado y molienda conservará los flavonoides que se encuentran en éste?
- 2.- ¿Al interaccionar el polvo de mosto de vino, con los insumos utilizados para elaborar la gelatina conservará los flavonoides?
- 3.- ¿La gelatina enriquecida con polvo de mosto de vino cumplirá con los parámetros fisicoquímicos de pH, humedad, y cenizas permitidos?
- 4.- ¿La gelatina enriquecida con polvo de mosto de vino cumplirá con las características organolépticas de color, olor, sabor y aspecto permitidos?

5.- ¿La gelatina enriquecida con polvo de mosto de vino cumplirá con los criterios microbiológicos establecidos por la Norma de la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA) para poder ser considerada apta para el consumo humano?

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General

Elaborar una gelatina enriquecida con flavonoides obtenidos del polvo de mosto de vino.

1.4.2. Objetivos Específicos

- 1.- Identificar los flavonoides presentes en el polvo de mosto de vino.
- 2.- Determinar el flavonoide quercetina presente en el polvo de mosto de vino y en la gelatina elaborada.
- 3.- Determinar los parámetros fisicoquímicos de pH, humedad y cenizas en la gelatina enriquecida con polvo de mosto de vino.
- 4.- Observar las características organolépticas en el producto elaborado.
- 5.- Evaluar si la gelatina elaborada cumple con los criterios microbiológicos establecidos por la Norma de la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA).

1.5. Variables e indicadores

Cuadro N°1: Operacionalización de las variables

Variable	Dimensión	Sub dimensión	Indicador	Sub Indicador	Ítems	Escala	Categorización	
Independiente Mosto de vino	Ensayos físicoquímicos	Características organolépticas	Color	Morado	1	Nominal	Cualitativa	
			Olor	Característico	1			
			Sabor	Característico	1			
			Aspecto	Textura	1	Nominal		
		pH	Acido	Menor a 7	1	Intervalo	Cuantitativa	
			Neutro	Igual a 7	1			
			Básico	Mayor a 7	1			
		Cenizas	Porcentaje	%	1	Ordinal	Cuantitativo	
	Humedad	Porcentaje	%	1	Ordinal	Cuantitativo		
	Identificación de Metabolito Secundario	Concentración de Quercetina	Reactivo Shinoda	Naranja	5	5	Nominal	Cualitativa
				Rojo				
				Amarillo				
				Violeta				
			Azul					
Ácido sulfúrico			Amarillo	3	3	Nominal		
	Anaranjado							
Rojo								
Curva de calibración	Longitud de onda, con respecto a una curva patrón	1	Ordinal	Cuantitativa				
Dependiente Gelatina	Análisis microbiológico	Mohos	Agar Sabouraud	Límite máximo < 10 ² ufc por /g	1	Razón	Cuantitativa	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	Manitol Salado	Límite máximo < 10 ² ufc por /g	1	Razón		
		Coliformes	Caldo Lactosado	Límite máximo < 10 ² ufc por /g	1	Razón		
	Ensayos físicoquímicos	Características organolépticas	Color	Morado	1	Nominal	Cualitativa	
			Olor	Característico	1			
			Sabor	Característico	1			
			Aspecto	Textura	1	Nominal		
		pH	Acido	Menor a 7	1	Intervalo	Cuantitativa	
			Neutro	Igual a 7	1			
			Básico	Mayor a 7	1			
		Cenizas	Porcentaje	%	1	Ordinal	Cuantitativo	
Humedad	Porcentaje	%	1	Ordinal	Cuantitativo			
Identificación de Metabolito Secundario	Concentración de Quercetina	Curva de calibración	Longitud de onda, con respecto a una curva patrón	1	Ordinal	Cuantitativa		

Fuente: Elaboración propia

1.6. Justificación e importancia de la investigación

La salud en estos días es un tema de preocupación constante, debido a que hay muchas enfermedades como diabetes, alzhéimer, párkinson, entre otras, que se está presentando con mayor frecuencia, siendo prioridad para las personas buscar en el mercado productos que ofrezcan la prevención de estas dolencias; el auge de los antioxidantes está sobre todo en el campo de la cosmética, más que en el de la alimentación ya que el mercado se dirige más al área del envejecimiento de la piel, ya que es un tema más comercial, y en la alimentación en estos días está basado en el consumo de diversos frutos que poseen capacidad antioxidante, de allí que este estudio, tiene una orientación social y sobretodo es un tema de evidente actualidad.

La gelatina es un producto que es bien asimilado tanto por niños como por adultos, además de contener colágeno en su estructura, si se le agrega un valor nutricional por medio de la adición del polvo de mosto de vino el cual según estudios realizados contiene entre sus componentes compuestos fenólicos (flavonoides), mejoraría la calidad nutricional del producto y se innovaría su presentación, de esta forma la investigación, tiene una orientación científica.

Es por ello que se plantea lo siguiente: elaborar una gelatina en polvo que posea entre sus componentes la capacidad antioxidante al incluir el polvo de mosto, el cual posee flavonoides, buscando cumplir con los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad planteados por la norma DIGESA, obteniendo así, un producto de calidad que pueda ser consumido por las personas.

1.7. Tipo y nivel de investigación

1.7.1. Tipo de Investigación

Tipo aplicada, de corte transversal

1.7.2. Nivel de Investigación

Nivel descriptivo.

1.8. Método y diseño de la Investigación

1.8.1. Método de la Investigación

Para realizar el presente estudio, se siguió la metodología que se muestra a continuación, la cual fue planificada cuidadosamente, teniendo como base la teoría y metodología consultada.

1.8.1.1. Secado del mosto de vino:

Método: Secado en estufa. ⁽⁵⁾

Fundamento: La determinación de secado en estufa se basa en la pérdida de peso de la muestra por evaporación del agua. Para esto se requiere que la muestra sea térmicamente estable y que no contenga una cantidad significativa de compuestos volátiles. El secado de la muestra detiene los procesos enzimáticos y estabiliza la muestra.

Procedimiento: Se procedió a secar el mosto en la estufa a 30°C por un lapso de 72 horas, para evitar la pérdida de compuestos volátiles como lo son los flavonoides, esto se hizo en una malla elaborada especialmente para que se pudiera secar adecuadamente la muestra.

1.8.1.2. Molienda del mosto de vino:

Método: Molienda por trituración manual y mecánica.

Fundamento: Hay que tener en cuenta la ley de Fick, que dice que mientras mayor es el grado de división de la muestra, mayor será la superficie entre las fases de contacto.

La molienda asegura la homogenización de la muestra y facilita la destrucción de la materia orgánica. Una vez molida y homogenizada, la muestra debe almacenarse en condiciones que minimicen su deterioro.

⁽⁵⁾ Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Laboratorio de Alimentos I. Fundamentos y técnicas de análisis de alimentos, México: Departamento de alimentos y biotecnología; 2008.

Procedimiento: Se realizó la molienda de la muestra y se pasó por un tamiz de 600 µm (número 30).

El polvo obtenido de la molienda se almacenó en un recipiente de vidrio debidamente rotulado y en un lugar fresco y seco, para realizar los diferentes ensayos requeridos y la elaboración del producto final.

1.8.1.3. Análisis organoléptico del polvo de mosto de vino: ⁽⁶⁾

Fundamento: Valoración cualitativa que se realiza sobre una muestra, basada exclusivamente en la valoración de los sentidos.

Procedimiento:

- Aspecto: Se tomó una pequeña cantidad de muestra en una luna de reloj y se procedió a verificar si la muestra no presentó anomalías de uniformidad o partículas extrañas.
- Color: Se tomó una pequeña cantidad de muestra en una luna de reloj y se verificó el color propio. (Polvo morado).
- Olor: Se tomó una pequeña cantidad de muestra en una luna de reloj y se percibió el olor. El producto debía presentar aroma a uva fermentada.
- Sabor: Se tomó una pequeña cantidad de muestra y se procedió a degustar, este tenía que presentar sabor agradable. (Dulce ó amargo).

1.8.1.4. Análisis Fitoquímico del polvo de mosto de vino:

Reconocimiento de Flavonoides ⁽⁷⁾

a) Identificación en el polvo de mosto de vino:

Tratamiento de la muestra: Se pesó 1g de muestra seca y pulverizada en un erlenmeyer de 50 mL, se añadió 5 mL de metanol y se calentó por 10 minutos a 60°C. Luego se filtró.

⁽⁶⁾ KuKlinski C. Farmacognosia “Estudio de las Drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural”, Primera reimpresión, Barcelona: Ediciones Omega S.A.; 2006. p. 15.

⁽⁷⁾ Miranda M, Cuellar A. Farmacognosia y Productos Naturales. 1ºed, La Habana (Cuba): Editorial Félix Varela; 2001.

i) Ensayo de Shinoda

Se tomó una alícuota de 1 mL del extracto metanólico; se le añadió 1 mL de HCl (cc) y unas virutas de Mg (s) y al terminar la reacción se le adicionó alcohol amílico y se agitó. Se dejó separar las fases y se observó la coloración del alcohol amílico, siendo la evidencia positiva:

- Flavonas: amarillo, naranja o rojo.
- Flavonol o flavanonol: rojo a carmesí, rojo magenta.
- Flavononas: carmesí a magenta, rojo, magenta, violeta, azul.
- Isoflavonas: amarillo.
- Isoflavanonas, calconas y auronas: incoloras.

ii) Ensayo con ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado

Se tomó una alícuota de 1 mL del extracto metanólico; se añadió tres gotas de H₂SO₄ concentrado y se observó la coloración, siendo la evidencia positiva una coloración diferente al carmelita claro:

- Flavonas y flavonoles: amarillo intenso.
- Flavononas: anaranjado o guinda.
- Calconas o auronas: rojo guinda o rojo azulado

b) Determinación en el polvo de mosto de vino: Este dato es importante conocerlo, para poder adicionar a la gelatina la cantidad necesaria de polvo de mosto de vino de vid, y así poder enriquecerla.

Fundamento: Se basa en la ley combinada de Lambert y Beer, que dice que la absorbancia de una especie en solución homogénea, es directamente proporcional a su actividad óptica, longitud de paso y su concentración.

Tratamiento de la muestra: ⁽⁸⁾

Se pesó 1 g de la muestra seca y pulverizada en un erlenmeyer de 50 mL, se añadió 20 mL de etanol al 80%.

⁽⁸⁾Lock, O. 1994. Investigación Fitoquímica, Método en el Estudio de Productos Naturales. Fondo Editorial PUCP. Lima.

Se llevó a estufa a 60°C por 30 minutos, luego se procedió a filtrar, recogiendo el filtrado en una fiola de 25 mL y se llevó a volumen con etanol al 80% lo cual constituyó la muestra diluida.

Preparación de la muestra: ⁽⁹⁾

- Para la determinación de los flavonoides totales en una fiola de 10 mL se añadió 0,1 mL de la muestra diluida mezclándola con 3 mL de etanol al 95%; luego se adicionó 0,2 mL de cloruro de aluminio al 10 % y 0,2 mL de acetato de potasio 1 M. Posteriormente se aforó con alcohol al 80%.
- Se dejó reposar por 40 minutos a temperatura ambiente y protegido de la luz y se procedió a leer la absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 434 nm.
- Para el blanco en una fiola de 10 mL se añadió 0,1 mL de agua destilada, mezclándola con 3 mL de etanol al 95%; luego se adicionó 0,2 mL de cloruro de aluminio al 10 % y 0,2 mL de acetato de potasio 1 M. Posteriormente se aforó con alcohol al 80%.

Preparación de la curva de calibración de la Quercetina: ⁽¹⁰⁾

- Se pesó 3,0 mg de Quercetina patrón y se disolvió en una fiola de 10 mL con etanol al 80%.
- A partir de esta solución se preparó diluciones de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 ppm.
- A cada dilución se adicionó 3 mL de alcohol al 95 %; 0,2 mL de cloruro de aluminio al 10 %; 0,2 mL de acetato de potasio 1 M y finalmente se aforó a 10 mL con alcohol al 80%.
- La solución reposó durante 40 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz, para luego ser leída en el espectrofotómetro a 434 nm.

⁽⁹⁾Rengifo J. Cuantificación de Flavonoides en el extracto etanólico de propóleos, Revista Científica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2014; vol. (1), pág. 53.

⁽¹⁰⁾Ibid.

- Para el blanco en una fiola de 10 mL se añadió 0,1 mL de agua destilada, mezclándola con 3 mL de etanol al 95%; luego se adicionó 0,2 mL de cloruro de aluminio al 10 % y 0,2 mL de acetato de potasio 1 M. Posteriormente se aforó con alcohol al 80%.
- Los datos obtenidos se evaluarán usando el programa Excel y la concentración de flavonoides de la muestra se hallará usando regresión lineal simple.

1.8.1.5. Análisis fisicoquímico del polvo de mosto de vino:

i) Determinación del pH:

Método: Potenciómetro.

Fundamento: Mide la diferencia de potencial entre dos electrodos, un electrodo de plata (cloruro de plata) y un electrodo de vidrio que es sensible al ión hidrógeno. La determinación del pH se debe realizar con la muestra para ver si es de carácter ácido o básico.

Procedimiento: Para determinar el pH se pesó 1,5 g de polvo de mosto de vino de vid, aparte se puso en un vaso de precipitados 25 mL de agua destilada y se llevó a temperatura de ebullición.

Una vez que empezó a hervir el agua, se procedió a añadir la muestra y se dejó reposar por 7 minutos, luego de los cuales, se procedió a filtrar y se leyó su pH.

ii) Determinación de humedad: ⁽¹¹⁾

Método: Gravimétrico

Fundamento: Se basa en la pérdida del peso de la muestra por evaporación del agua, un exceso de agua puede provocar el crecimiento

⁽¹¹⁾ Miranda M, Cuellar A. Farmacognosia y productos naturales. 1ra Edición. La Habana: Editorial Félix Varela. 2001. Pág.140.

microbiano, la presencia de hongos, insectos o el deterioro, seguido de la hidrólisis de los principios activos.

Procedimiento: Se pesó 1 g. de muestra en la cápsula previamente tarada; luego se colocó en la estufa a una temperatura de 105°C durante 4 horas. Después se retiró la cápsula y se transfirió al desecador por media hora a temperatura ambiente. Una vez transcurrido ese tiempo se procedió a pesar la cápsula (el peso perdido resultante indica el contenido en agua de la muestra vegetal). Por duplicado.

Límites aceptables: 10-12% ⁽¹²⁾

Cálculos: Calcular el porcentaje de humedad con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ humedad} = \frac{(\text{cápsula} + \text{muestra}) - (\text{cápsula} + \text{residuo})}{(\text{cápsula} + \text{muestra}) + (\text{cápsula})} \times 100$$

iii) Determinación de cenizas: ⁽¹³⁾

Método: Gravimétrico por incineración

Fundamento: Se basa en la destrucción de la materia orgánica al someter la muestra a elevadas temperaturas (500 a 600 ° C) hasta obtener cenizas completamente blancas; quedando como residuo la cantidad de componentes inorgánicos presentes en la muestra.

Procedimiento: En un crisol previamente tarado, se colocó de 1 g. de muestra; luego se llevó el crisol a la llama directa del mechero Bunsen, posteriormente se colocó en la mufla y se sometió a 550°C durante 3 horas (dejar enfriar en la mufla).

⁽¹²⁾Dutuligia E. Pharmacognostic Methods for Analysis of Herbal Drugs, According to European Pharmacopoeia: Loss on drying. Romania: INTECH; 2012. p. 47.

⁽¹³⁾Miranda M, Cuellar A. Farmacognosia y productos naturales. 1ra Edición. La Habana: Editorial Félix Varela. 2001. Pág.139

Una vez frío se transfirió al desecador por 30 minutos para su completo enfriamiento y luego se procedió a determinar la masa del crisol con cenizas. Por duplicado.

Límites aceptables: < 5%, mayor a este valor someter la droga a otros análisis. ⁽¹⁴⁾

Cálculos: Calcular el porcentaje de cenizas con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ cenizas} = \frac{(\text{cápsula} + \text{cenizas})}{(\text{cápsula} + \text{muestra}) - (\text{cápsula})} \times 100$$

1.8.1.6. Elaboración de la gelatina

Luego de conocer la cantidad de flavonoides presentes en el polvo de mosto de vino, se procedió a elaborar la gelatina mezclando este polvo con los insumos que se describen en el cuadro siguiente:

Cuadro N° 2: Insumos utilizados para elaborar la Gelatina

Materia Prima	Cantidad (g)	Función
Azúcar blanca refinada	1250.00	Edulcorante
Ácido fumárico	9.00	Antiaglutinante
Citrato de sodio	7.00	Regulador de la acidez
Acido cítrico	1.70	Acidulante
Color chicha morada	0.05	Colorante
Sabor uva	4.20	Saborizante
Colapiz o gelatina incolora	135.00	Gelificante
TOTAL	1406.95	

Fuente: Elaboración propia

Del total de la mezcla se pasó por un tamiz de 600 µm (número 30), según lo establece la Norma Técnica Peruana 209.231- 1985, separándose luego en porciones de 180 g (la cual se reconstituirá en 1.5 L de agua), esta es la porción que será envasada.

⁽¹⁴⁾ Miranda M., Cuellar A. *ibid.* p.139.

1.8.1.7. Análisis fisicoquímico a la muestra de gelatina obtenida:

1) Determinación del pH:

Este se llevó a cabo antes del envasado de la gelatina y diez días después de exposición del producto elaborado a temperatura ambiente.

Método: Potenciómetro.

Fundamento: Mide la diferencia de potencial entre dos electrodos, un electrodo de plata (cloruro de plata) y un electrodo de vidrio que es sensible al ión hidrógeno. La determinación del pH se debe realizar con la muestra para ver si es de carácter ácido o básico.

Procedimiento: Para determinar el pH se procedió a pesar 1,5 g de la gelatina, aparte se puso en un vaso de precipitados 25 mL de agua destilada y se llevó a temperatura de ebullición.

Luego se procedió a añadir la gelatina y se dejó reposar por 7 minutos, Se filtró y se determinó el pH.

2) Determinación de humedad:⁽¹⁵⁾

Este se llevó a cabo antes del envasado de la gelatina y después de diez días de exposición del producto elaborado a temperatura ambiente.

Todos los alimentos, cualquiera que sea el método de industrialización a que hayan sido sometidos, contienen agua en mayor o menor proporción.

Las cifras de contenido en agua varían entre un 60 y un 95% en los alimentos naturales.

En los tejidos vegetales y animales, puede decirse que existe en dos formas generales: "agua libre" y "agua ligada".

El agua libre, que es la forma predominante, se encuentra absorbida en los tejidos animales y vegetales y se libera con gran facilidad, permite las reacciones químicas y bioquímicas, es la porción de agua que se volatiliza

⁽¹⁵⁾Less, R. Manual de análisis de alimentos. Zaragoza (España): Editorial Acribia; 1969. p.128.

fácilmente, se pierde en el calentamiento. Se congela primero y es la principal responsable de la actividad acuosa.

El agua ligada se encuentra combinada o ligada a las proteínas y a las moléculas de sacáridos y es difícil de remover. Es la porción de agua que no se congela en condiciones normales a -20°C.

El agua libre sería la única disponible para el crecimiento de microorganismos, puesto que el agua ligada está unida a la superficie y no puede intervenir en estos procesos. ⁽¹⁶⁾

Existen varias razones por las cuales, la mayoría de las industrias de alimentos determinan la humedad, las principales son las siguientes:

- El comprador de materias primas no desea adquirir agua en exceso.
- El agua, si está presente por encima de ciertos niveles, facilita el desarrollo de los microorganismos.
- Los materiales pulverulentos se aglomeran en presencia de agua, por ejemplo azúcar y sal.
- La cantidad de agua presente puede afectar la textura.

Procedimiento: Se pesó de 3 a 5 g. de muestra en la cápsula previamente tarada; luego se colocó en la estufa a una temperatura de 105°C, durante 4 horas.

Después se retiró la cápsula y se transfirió al desecador por media hora a temperatura ambiente. Una vez transcurrido ese tiempo se procedió a pesar la cápsula. El procedimiento se hizo por duplicado.

Límites aceptables: Máx. 3% ⁽¹⁷⁾

Cálculos: Utilizar la siguiente ecuación:

$$\% \text{ humedad} = \frac{(cápsula + muestra) - (cápsula + residuo)}{(cápsula + muestra) + (cápsula)} \times 100$$

⁽¹⁶⁾ Hart F. L.; Análisis moderno de los alimentos. Zaragoza (España): Editorial Acribia; 1991.

⁽¹⁷⁾ Norma Técnica Peruana, Dirección de Normalización - INACAL. Postre de gelatina. NTP 209-031:1985, 1ª edición, Lima-Perú; (revisada el 2017).

3) Determinación de cenizas:⁽¹⁸⁾

Este se llevó a cabo antes del envasado de la gelatina y después de diez días de exposición del producto elaborado a temperatura ambiente.

Las cenizas de un alimento son un término analítico equivalente al residuo inorgánico que queda después de calcinar la materia orgánica.

Las cenizas normalmente, no son las mismas sustancias inorgánicas presentes en el alimento original, debido a las pérdidas por volatilización o a las interacciones químicas entre los constituyentes.

El valor principal de la determinación de cenizas (y también de las cenizas solubles en agua, la alcalinidad de las cenizas y las cenizas insolubles en ácido) es que supone un método sencillo para determinar la calidad de ciertos alimentos, por ejemplo en las especias y en la gelatina es un inconveniente un alto contenido en cenizas.

Las cenizas de los alimentos deberán estar comprendidas entre ciertos valores, lo cual facilitará en parte su identificación.⁽¹⁹⁾

Procedimiento:

En un crisol previamente tarado, se colocó de 3 a 5 g. de muestra; luego se llevó el crisol a la llama directa del mechero Bunsen, posteriormente se colocó en la mufla y se sometió a 550°C durante 3 horas (dejar enfriar en la mufla).

Una vez frío se transfirió al desecador por 30 minutos para su completo enfriamiento y luego se procedió a determinar la masa del crisol con cenizas. El procedimiento se realizó por duplicado.

⁽¹⁸⁾ Less, R. Op. Cit. p. 93.

⁽¹⁹⁾ Pearson. D. Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos. Zaragoza (España): Editorial Acribia S.A; 1993.

Límites aceptables: Máx. 3% ⁽²⁰⁾

Cálculos: Utilizar la siguiente ecuación:

$$\% \text{ cenizas} = \frac{(\text{cápsula} + \text{cenizas})}{(\text{cápsula} + \text{muestra}) - (\text{cápsula})} \times 100$$

1.8.1.8. Análisis microbiológico a la gelatina:⁽²¹⁾

Este se llevó a cabo antes del envasado de la gelatina y después de diez días de exposición del producto elaborado a temperatura ambiente, es decir, conservado dentro de su empaque, en un lugar fresco y seco.

El análisis estuvo basado en la norma sanitaria DIGESA que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano y cuyos parámetros se muestran en el cuadro siguiente:

Cuadro N° 3: Criterios microbiológicos según DIGESA

IV.3 Mezclas en seco de uso instantáneo (refrescos, gelatinas, jaleas, cremas, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Coliformes	5	3	5	2	10	10 ²
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	3	5	1	10	10 ²
<i>Bacillus cereus</i> (*)	7	3	5	2	10 ²	10 ³
<i>Salmonella sp.</i> (**)	10	2	5	0	Ausencia /25 g	—
Mohos	3	3	5	1	10	10 ³
(*) Solo para productos que contengan cereales.						
(**) Solo para productos que contengan leche, cacao y/o huevo.						

Fuente: Ministerio de Salud, Perú; Dirección General de Salud e Inocuidad Alimentaria. 2010.

⁽²⁰⁾ Norma Técnica Peruana, Comisión de normalización y fiscalización de barreras comerciales no arancelarias INDECOPI. Gelatinas. Definiciones, clasificación y requisitos generales. NTP 209-086:1981, 1ª edición, Lima-Perú; (revisada el 2012).

⁽²¹⁾ Ministerio de Salud [Página Principal en Internet], Perú; Dirección General de Salud e Inocuidad Alimentaria (DIGESA) NTS N° - MINS/DIGESA-V.01 - 2010 [consultado el 30 de Agosto del 2016]. Disponible en <http://www.Digesa.sld.pe/pendientes/leyes-reglamentos.aspx>. p. 19.

1) Pesado y disolución de los agares:

Se realizó los cálculos correspondientes para conocer las cantidades requeridas para preparar los agares necesarios, siguiendo las indicaciones dadas para cada uno, los agares que se prepararon fueron:

a) Agar Dextrosa Saboraud ⁽²²⁾

Medio universalmente empleado para el aislamiento y cultivo de mohos.

Fundamento: ⁽²³⁾ En el medio de cultivo la pluripectona y la glucosa son los nutrientes para el desarrollo de los microorganismos.

El alto contenido de glucosa, la presencia de cloranfenicol y el pH ácido del medio favorecen el crecimiento de mohos por sobre el de las bacterias.

b) Agar Manitol Salado ⁽²⁴⁾

Medio selectivo para el aislamiento de *Staphylococcus*. La elevada concentración de NaCl (7,5%) inhibe el crecimiento del resto de microorganismos, con excepción de las bacterias halotolerantes.

Fundamento: En el medio de cultivo la pluripectona y el extracto de carne constituyen la fuente de carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales, el manitol es el hidrato de carbono fermentable, el cloruro de sodio que se encuentra en alta concentración, es el agente selectivo que inhibe el desarrollo de la flora acompañante y el rojo fenol es el indicador de pH. Las bacterias que crecen en un medio con alta concentración de sal y fermentan el manitol, producen ácidos con lo que se modifica el pH del medio y vira el indicador de pH del rojo al amarillo.

⁽²²⁾ Diaz R., Camargo C., Lopez Goñi I. Manual Práctico de Microbiología. Barcelona (España): Editorial Massom; 1994.

⁽²³⁾ Laboratorio Britania S.A.; Agar Glucosado Saboraud, Caba-Argentina; 2015.

⁽²⁴⁾ Laboratorio Britania S.A., Manito Salado, Caba-Argentina; 2015.

c) Caldo Lactosado ⁽²⁵⁾

Es un medio rico en nutrientes y no contiene inhibidores del crecimiento bacteriano.

Fundamento: El extracto de carne y la peptona, son la fuente de carbono y nitrógeno, mientras que la lactosa es el hidrato de carbono fermentable. Por la fermentación de la lactosa, se produce ácido y gas, y éste último se demuestra al usar las campanas Durham.

d) Agua Peptonada ⁽²⁶⁾

Medio utilizado como diluyente habitual y para enriquecimiento bacteriano a partir de alimentos y otros materiales de interés sanitario.

Fundamento: Medio de enriquecimiento no selectivo, recomendable para ser utilizado en lugar de solución fisiológica para recuperar células de enterobacterias dañadas por procesos fisicoquímicos, a los que ha sido sometido el alimento.

2) Preparación de los agares ⁽²⁷⁾

- Se colocó el polvo de cada uno de los agares en un matraz de 250 mL con la cantidad requerida de agua destilada. Se dejó reposar por cinco minutos y se mezcló hasta homogeneizar. Se calentó a ebullición durante 2 o 3 minutos.
- Se esterilizó en la autoclave debidamente protegida y sellada, por 15 minutos a 120°, pasados los cuales se retiró el material y los agares.
- Se dejó enfriar un poco, antes de proceder al plaqueado respectivo.
- Rotular cada placa con el nombre del agar correspondiente, así como la dilución que contiene.

⁽²⁵⁾ Laboratorio Britania S.A., Caldo Lactosado, Caba-Argentina; 2015.

⁽²⁶⁾ Vid nota 24.

⁽²⁷⁾ Granados Pérez R., Villaverde Peris M. C. Microbiología. Madrid (España): Editorial Paraninfo; 1998.

3) Determinación de Mohos

- Se emplea la técnica usual de recuento en placa de agar, a partir de una serie de diluciones decimales del polvo de gelatina.
- Se preparó diluciones logarítmicas a base de 10 (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}).
- Se rotuló el vaso de precipitados como dilución 10^{-1} , se colocó 10 g de la muestra y se adicionaron 90 mL de agua peptonada y se mezcló hasta homogenizar.
- Aparte en una gradilla colocar dos tubos de ensayo debidamente rotulados (10^{-2} , 10^{-3}), conteniendo cada uno 9 mL de agua peptonada.
- Para la dilución 10^{-2} se tomó 1 mL de la dilución 10^{-1} y lo colocamos en el tubo 10^{-2} y se homogeniza.
- Para la dilución 10^{-3} se tomó 1 mL de la dilución 10^{-2} y lo colocamos en el tubo 10^{-3} y se homogeniza.
- A partir de estas diluciones se realizó la determinación de mohos.
- De cada una de las diluciones, se tomó 0.1 mL y se sembró sobre la superficie seca de Agar Sabouraud y con la ayuda del asa de drigalsky se expandió cuidadosamente el inóculo sobre toda la superficie del medio.
- Se procedió a incubar las placas sin invertir a 25 °C por 3 días.
- Se observó los resultados.

4) Determinación de *Staphylococcus aureus*

- Se emplea la técnica usual de recuento en placa de agar, a partir de una serie de diluciones decimales del polvo de gelatina.
- Se preparó diluciones logarítmicas a base de 10 (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}).
- Se rotuló el vaso de precipitados como dilución 10^{-1} , se colocó 10 g de la muestra y se adicionaron 90 mL de agua peptonada y se mezcló hasta homogenizar.
- Aparte en una gradilla colocar dos tubos de ensayo debidamente rotulados (10^{-2} , 10^{-3}), conteniendo cada uno 9 mL de agua peptonada.
- Para la dilución 10^{-2} se tomó 1 mL de la dilución 10^{-1} y lo colocamos en el tubo 10^{-2} y se homogeniza.

- Para la dilución 10^{-3} se tomó 1 mL de la dilución 10^{-2} y lo colocamos en el tubo 10^{-3} y se homogeniza.
- A partir de estas diluciones se realizó la determinación de *Staphylococcus aureus*.
- De cada una de las diluciones, se tomó 0.1 mL y se sembró sobre la superficie seca de Agar Manitol salado y con la ayuda del asa de drigalsky se expandió cuidadosamente el inóculo sobre toda la superficie del medio.
- Se procedió a incubar las placas invertidas a 37 °C por 48 horas.
- Se observó los resultados.

5) Recuento de coliformes totales ⁽²⁸⁾

Fundamento: La capacidad de este grupo microbiano de fermentar la lactosa con producción de ácido y gas al incubarlos a 37°C durante 48 horas, utilizando un medio de cultivo que contenga sales biliares.

Esta determinación consta de dos fases, la fase presuntiva y la fase confirmativa.

En la fase presuntiva el medio de cultivo que se utiliza es el caldo lactosado el cual permite la recuperación de los microorganismos dañados que se encuentren presentes en la muestra y que sean capaces de utilizar a la lactosa como fuente de carbono.

Durante la fase confirmativa se emplea como medio de cultivo caldo lactosado bilis verde brillante (en el medio de cultivo, la peptona aporta los nutrientes necesarios para el adecuado desarrollo bacteriano, la bilis y el verde brillante son los agentes selectivos que inhiben el desarrollo de bacterias Gram positivas y Gram negativas a excepción de coliformes, y la lactosa es el hidrato de carbono fermentable), el cual es selectivo y solo permite el desarrollo de aquellos microorganismos capaces de tolerar tanto las sales biliares como el verde brillante.

⁽²⁸⁾ Alonso B., Aragón V., Bengoechea J.A., Díaz R., Gamazo C., García I., Hernaez S., Irigoyen A., Leiva J., López Goñi I., Marrodan T., Martínez de Tejada G., Oteiza M.C., Romero I., Rubio M., Velasco J. y Vitas A. Manual Práctico de Microbiología. 2ª ed. Barcelona (España): Editorial Masson; 2003.

Es una propiedad del grupo coliforme, la fermentación de la lactosa con producción de ácido y gas.

La determinación del número más probable de microorganismos coliformes fecales se realiza a partir de los tubos positivos de la prueba presuntiva y se fundamenta en la capacidad de las bacterias para fermentar la lactosa y producir gas cuando son incubados a una temperatura de 45°C por un periodo de 18 horas.

Procedimiento

a) Prueba presuntiva

- Agitar vigorosamente la muestra por lo menos 20 veces para lograr una distribución uniforme de los microorganismos.
- Se preparó diluciones logarítmicas a base de 10 (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}).
- Se rotuló el vaso de precipitados como dilución 10^{-1} , se colocó 10 g de la muestra y se adicionaron 90 mL de agua peptonada y se mezcló hasta homogenizar.
- Aparte en una gradilla colocar dos tubos de ensayo debidamente rotulados (10^{-2} , 10^{-3}), conteniendo cada uno 9 mL de agua peptonada.
- Para la dilución 10^{-2} se tomó 1 mL de la dilución 10^{-1} y lo colocamos en el tubo 10^{-2} y se homogeniza.
- Para la dilución 10^{-3} se tomó 1 mL de la dilución 10^{-2} y lo colocamos en el tubo 10^{-3} y se homogeniza.
- Proceder a inocular asépticamente 1 mL de muestra de cada dilución en tres tubos respectivamente conteniendo cada uno 9 mL de caldo lactosado y la campana de Durham invertido (en total nueve, tres por cada dilución).
- Dilución 10^{-1} : se agregó 1mL de la dilución 10^{-1} en los tubos con caldo lactosado (tres tubos).
- Dilución 10^{-2} : se agregó 1mL de la dilución 10^{-2} en los tubos con caldo lactosado (tres tubos).

- Dilución 10^{-3} : se agregó 1mL de la dilución 10^{-3} en los tubos con caldo lactosado (tres tubos).
- Incubar todos los tubos a una temperatura de 37 °C durante 48 horas.
- Observar los resultados.

Interpretación: Considerar positivos los tubos que presenten al menos un 10% de gas en la campana de Durham.

Si no se observa producción de gas, aun cuando se observa turbidez se considera negativo.

Si el total de tubos son Negativos: el examen se da por terminado, reportando la ausencia de coliformes totales y fecales en la muestra analizada.

Todos aquellos tubos positivos para prueba presuntiva se anotarán convenientemente y se procederá a realizar la prueba confirmatoria para Coliformes Totales y Fecales.

b) Prueba confirmatoria para coliformes totales

Esta consiste en que a partir de cada tubo que ha resultado positivo, se agitan para homogeneizar, inocular con un asa de micrón esterilizada tres asadas en tubos conteniendo 9 mL de Caldo Lactosado Bilis Verde Brillante y la campana de Durham invertida. Incubar a 44 °C por 18 horas más. Observar los resultados.

Interpretación: Si se observa turbidez y producción de gas en la campana de Durham, por lo menos en 10 % de su volumen, como consecuencia de la fermentación de la lactosa: la prueba se considera POSITIVA, debiendo anotar el número de tubos positivos para posteriormente hacer el cálculo del NMP.

Si en ninguno de los tubos se observa producción de gas, aunque se observe turbidez, se consideran NEGATIVOS, estableciendo el código 0, 0, 0 para efecto del cálculo del NMP.

Con el número de tubos positivos en cada serie se recurre a la tabla de número más probable (NMP) donde se obtendrá el recuento por gramo o miligramo de muestra.

1.8.1.9. Determinación de flavonoides en la gelatina

Análisis cuantitativo de flavonoides en la gelatina

Se realizó el ensayo respectivo, a cinco muestras.

Fundamento:

Se basa en la ley combinada de Lambert y Beer, que dice que la absorbancia de una especie en solución homogénea, es directamente proporcional a su actividad óptica, longitud de paso y su concentración.

Procedimiento:

–Se pesó 1g de la muestra seca y pulverizada en un erlenmeyer de 50 mL, se añadió 20 mL de etanol al 80%.

Se llevó a estufa a 60°C por 30 minutos, procediendo luego a filtrar, recogiendo el filtrado en una fiola de 25 mL y se llevó a volumen con etanol al 80%, lo cual constituyo la muestra diluida.⁽²⁹⁾

–Para la determinación de los flavonoides totales en una fiola de 10 mL se añadió 0,1 mL de la muestra diluida mezclándola con 3 mL de etanol al 95%; luego se adicionó 0,2 mL de cloruro de aluminio al 10 % y 0,2 mL de acetato de potasio 1 M. Posteriormente se aforó con alcohol al 80%.

⁽²⁹⁾ Vid nota 8.

- Se dejó reposar por 40 minutos a temperatura ambiente y protegido de la luz y se procedió a leer la absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 434 nm.
- Para el blanco en una fiola de 10 mL se añadió 0,1 mL de agua destilada, mezclándola con 3 mL de etanol al 95%; luego se adicionó 0,2 mL de cloruro de aluminio al 10 % y 0,2 mL de acetato de potasio 1 M. Posteriormente se aforó con alcohol al 80%.⁽³⁰⁾

1.8.1.10. Análisis Organoléptico a la gelatina ⁽³¹⁾

Fundamento

Valoración cualitativa que se realiza sobre una muestra, basada exclusivamente en la valoración de los sentidos.

Procedimiento

- Aspecto: Se tomó una pequeña cantidad de muestra en una luna de reloj y se procedió a verificar si la muestra no presentó anomalías de uniformidad o partículas extrañas.
- Color: Se tomó una pequeña cantidad de muestra en una luna de reloj y se verificó el color propio. (Polvo morado).
- Olor: Se tomó una pequeña cantidad de muestra en una luna de reloj y se percibió el olor. (Olor a uva).
- Sabor: Se tomó una pequeña cantidad de muestra y se procedió a degustar, esta tenía que presentar sabor agradable. (Dulce)

⁽³⁰⁾ Vid nota 9.

⁽³¹⁾ Norma Técnica Peruana, Comisión de normalización y fiscalización de barreras comerciales no arancelarias INDECOPI. Gelatinas. Definiciones, clasificación y requisitos generales. NTP 209-086:1981, 1ª edición, Lima-Perú; (revisada el 2012).

1.8.1.11. Etiquetado y envasado del producto final ⁽³²⁾

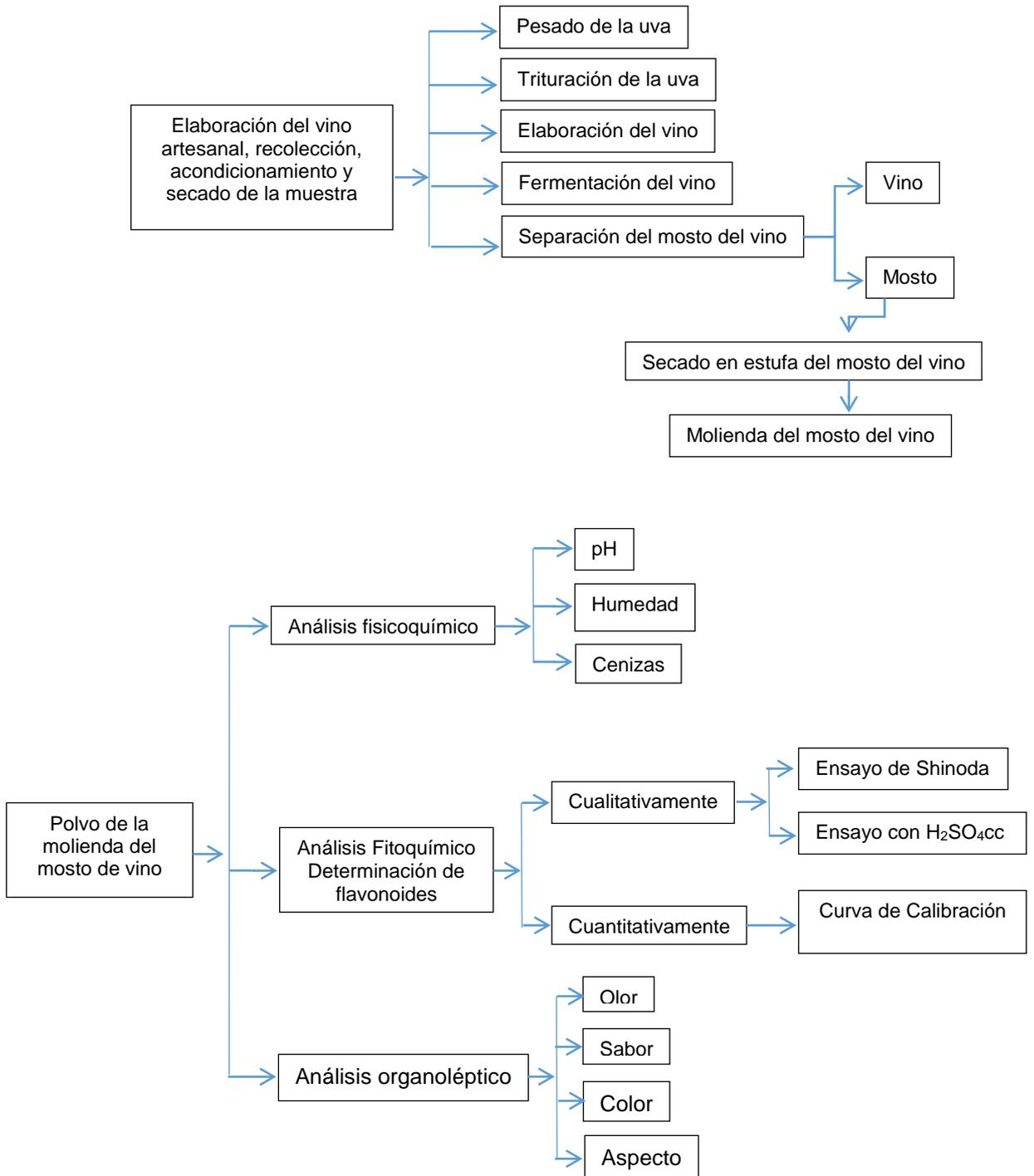
El producto fue envasado en bolsa plástica y colocada dentro de una caja, el etiquetado se elaboró de acuerdo a la Norma Técnica Peruana NTP209.038 2009., que nos dice que en la etiqueta de alimentos envasados deberá aparecer la siguiente información según sea aplicable al alimento que ha de ser etiquetado, excepto cuando expresamente se indique algo diferente en una Norma Técnica Peruana, o en ausencia de ésta en una Norma individual del Codex.

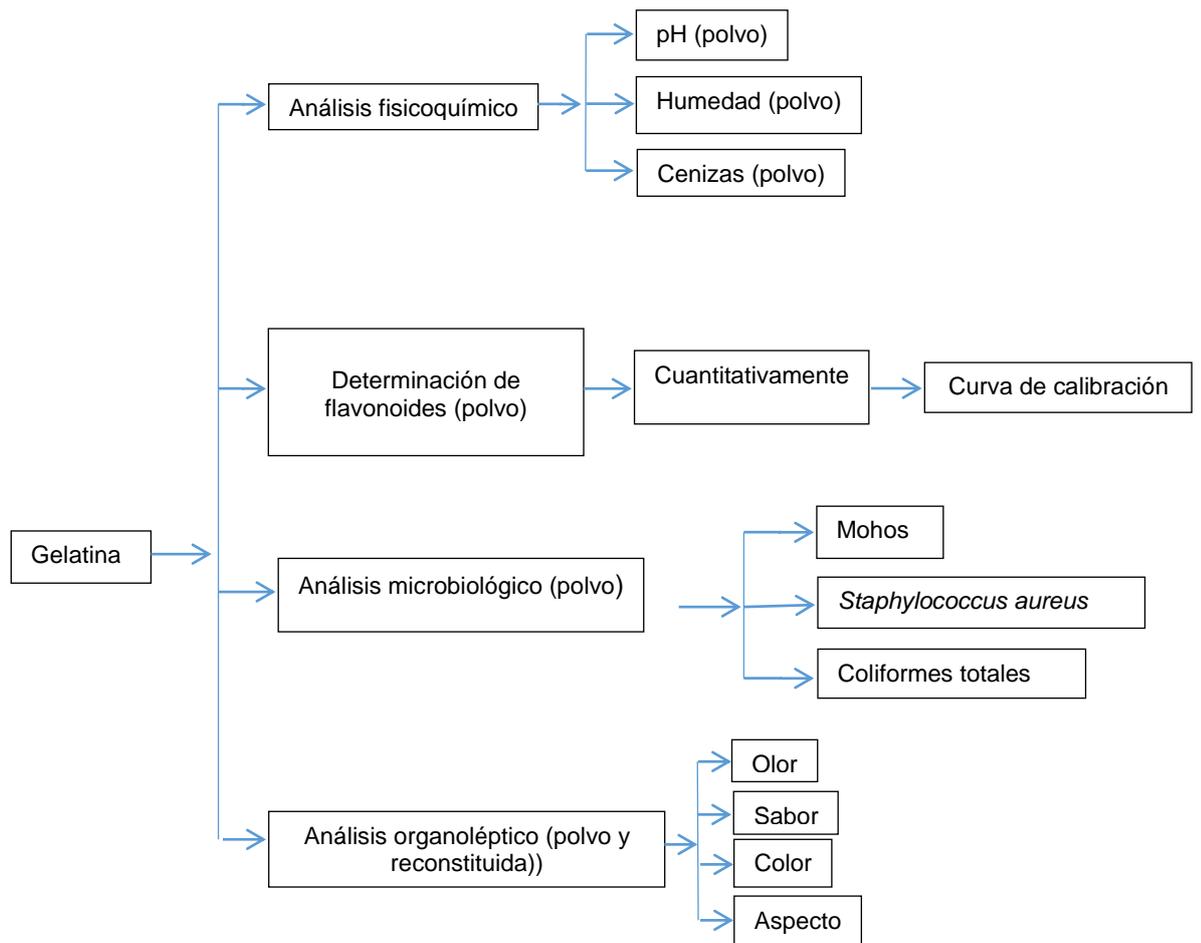
- Nombre del alimento
- Lista de ingredientes
- Contenido neto y peso escurrido
- Nombre y dirección del fabricante
- País de origen
- Identificación del lote
- Marcado de la fecha de vencimiento, instrucciones para la conservación e instrucciones para el uso.
- Registro sanitario: Este dato se obvió de la etiqueta debido a que el producto aún no se pretende comercializar en el mercado.

⁽³²⁾ Norma Peruana [artículo en línea], Perú; Norma Técnica Peruana 2009 – 12 - 30. 7ª Edición. Alimentos Envasados. Etiquetado. NTP 209.038 2009. [Consultado el 26 de Agosto del 2016]. Disponible en: http://www.sanipes.gob.pe/documentos/5_NTP209.0382009AlimentosEnvasados-Etiquetado.pdf

1.9. Diseño de la Investigación

Esquema N°1: Metodología de trabajo





Fuente: Elaboración propia

1.10. Material e Instrumentos

1.10.1. Material

1) Insumos

- Mosto de vino
- Azúcar blanca refinada
- Gelatina incolora (colapiz)
- Colorante artificial
- Saborizante artificial

2) Material de laboratorio

- Cubetas de vidrio y plástico
- 02 frascos de vidrio
- 02 crisoles
- 02 pinzas para crisol
- 04 vasos de precipitados de 250 mL
- 01 vaso de precipitado de 500 mL
- 04 picetas
- 08 lunas de reloj
- 02 probetas de 50 mL
- 05 baguetas
- 04 espátulas analíticas
- 10 detergentes
- 10 escobillas
- 04 matraz de 50 mL
- 09 fioles de 10 mL
- 04 fioles de 25 mL
- 04 espátulas mango de madera
- 04 mecheros
- 04 mallas de asbesto
- 04 trípodes
- 02 probetas de 25 mL
- 10 goteros de vidrio
- Set de micropipetas
- 03 cocinas
- 03 probetas de 100 mL
- 02 pipetas de 10 mL
- 02 pipetas de 5 mL
- 02 pipetas de 1 mL
- 01 termómetro
- 03 gradillas metálicas
- 20 tubos de ensayo
- 03 matraz de 250 mL
- 06 platillos para pesar agar

- 2 asas de siembra digralsky
- 20 placas petri descartables
- 20 jeringas estériles de 1 mL
- 03 jeringas estériles de 20 mL
- 03 jeringas estériles de 5 mL
- 10 pares de guantes estériles
- 10 barbijos
- Papel kraft
- Tamiz número 30.

3) Reactivos

- Agua destilada
- HCl (ácido clorhídrico)
- Cintas de magnesio
- H₂SO₄ (ácido sulfúrico)
- Metanol
- NaOH(hidróxido de sodio) al 20%
- Agua destilada
- Cloruro de aluminio
- Acetato de potasio
- Quercetina patrón
- Etanol al 80%
- Etanol al 95%
- Ron de quemar
- Buffer de 4, 7 y 10
- Alcohol amílico.
- Ácido fumárico
- Citrato de sodio
- Ácido cítrico

4) Equipos

- Balanza electrónica Henkel. Serie: KG72273. Capacidad: 200 g / 0,01g
- Balanza Electrónica Nahita. Modelo: 5034/120. Capacidad: 120 g / 0,1mg
- Estufa Nahita Drying Oven. Modelo: 631/4

- Espectrofotómetro Marca Zuzi 4200. Modelo: 54200020. Serial N° C3166
- Desecador
- Balanza Ohaus Gold Series. MC: 173467. Serie: N13123
- Refractómetro VWR
- Mufla marca Quimis. N° de serie: 3726W
- Magnetic Stirrer Eith Heating Nahita. Code: 50690010. C34728
- Orion 3 Star Peachímetro. Thermoelectron Corporation. SN: 003285
- Autoclave Greedmet. Modelo: LS-B50L. Serie: 13L-1146
- Incubadora marca Nahita. Model: 636/13

5) Agares

- Agar saboraud
- Agar manitol salado
- Caldo lactosado
- Agua peptonada

1.11. Cobertura del estudio

1.11.1. Unidad de Estudio: Gelatina enriquecida con polvo de mosto de vino.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes Investigativos

Los antecedentes que a continuación se presentan, sirvió de base indirecta a la presente investigación, ya que se pretende mostrar, que si es posible evidenciar la presencia de flavonoides, tanto en el mosto de vino y en la vid en sí. Lo cual dio pie a seguir adelante con el proceso de investigación. Estos temas fueron las alternativas más próximas al problema planteado, mostrando con los datos vertidos en estos cuatro antecedentes, que el mosto de vino de uva posee flavonoides en su composición, lo cual le otorga capacidad antioxidante.

2.2.1.AUTOR: Lindo Rojas, Lidia, Universidad del Centro del Perú, Huancayo. Perú. 2015.

TITULO: “Evaluación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de mosto u orujo de uva en dos variedades: Quebranta (*Vitis vinífera* var. Quebranta) y Torontel (*Vitis vinífera* var. Torontel) empleando dos métodos de secado”

RESUMEN:

El presente trabajo presentó la evaluación de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante del mosto u orujo (cáscara y semilla) de uva *Vitis vinífera*

en dos variedades: Quebranta (tinta) y Torontel (blanca) destinadas a la elaboración de pisco, en el departamento de Ica, sometidas a dos tipos de secado: liofilizado y secado al frío.

Para ello se determinó el CQP de las muestras antes y después del tratamiento de secado. Seguidamente se determinaron la cantidad de polifenoles utilizando el método de Follin Ciocalteu, clasificándolos por su grado de extracción en:

- A) Polifenoles extraíbles, obteniéndose valores para las variedades Quebranta y Torontel liofilizadas de $5580,07 \pm 0,2321$ mg EAG/100 g dm y $4967,98 \pm 0,27$ mg EAG/100 g dm y para secado en frío, valores de $5349,96 \pm 0,39$ mg EAG/100g dm y $6095,36 \pm 0,58$ mg EAG/100g dm respectivamente.
- B) Taninos hidrolizables en las variedades Quebranta y Torontel ambas liofilizadas con valores de $3097,17 \pm 0,23$ mg EAG/100 g dm y $4315,54 \pm 0,28$ mg EAG/100 g dm y secadas por frío con valores de $3529,59 \pm 0,55$ mg EAG/100g dm y $3194,96 \pm 0,043$ mg EAG/100g dm.
- C) Taninos condensados para Quebranta y Torontel liofilizadas una cantidad de $30014,82 \pm 3,5$ mg EAG/100 g dm y $31314,72 \pm 8,3$ mg EAG/100 g dm y secados por frío de $31549,72 \pm 5,5$ mg EAG/100 g dm y $26029,96 \pm 4,1$ mg EAG/100 g dm.

Para determinar la capacidad antioxidante se utilizó el método DPPH por Brand-Williams et al., (1995), obteniéndose para polifenoles extraíbles en Quebranta y Torontel liofilizadas valores de, $3329,89 \pm 30,50$ y $2786,82 \pm 31,44$ $\mu\text{mol TE /g dm}$, mientras que para secadas por frío en Quebranta y Torontel de $3265,00 \pm 30,25$ y $4042,57 \pm 27,80$ $\mu\text{mol TE /g dm}$ respectivamente.

Para los taninos hidrolizables tanto en Quebranta y Torontel liofilizadas se obtuvo valores de $2069,48 \pm 44,69$ y $3391,70 \pm 18,02$ $\mu\text{mol TE /g dm}$ y en Quebranta y Torontel secados por frío resultando $2289,72 \pm 48,09$ y $1928,48 \pm 68,02$ $\mu\text{mol TE /g dm}$ por otro lado para los taninos condensados en Quebranta y Torontel Liofilizadas fueron de $2534,42 \pm 39,84$ y $2697,48 \pm 26,11$ $\mu\text{mol TE /g dm}$ y para Quebranta y Torontel secadas en frío fueron de $2406,60 \pm 26,84$ y $3381,58 \pm 14,44$ $\mu\text{mol TE /g dm}$.

Sin embargo, por el método FRAP (Benzi& Strain,2000) se obtuvo valores en polifenoles extraíbles en Quebranta y Torontel liofilizadas de $335,19 \pm 5,24$ y $293,22 \pm 6,56$ $\mu\text{molTrolox/g dm}$, mientras que para Quebranta y Torontel secado por frio valores de $352,76 \pm 10,89$ y $390,23 \pm 7,14$ $\mu\text{molTrolox/g dm}$. Sin embargo para los taninos hidrolizables para Quebranta y Torontel liofilizadas mostraron valores de $18,98 \pm 0.30$ y $22,23 \pm 0.44$ $\mu\text{molTrolox/g dm}$ y para las secado en frio en Quebranta y Torontel, valores de $21,39 \pm 0.38$ y $18,96 \pm 0.32$ $\mu\text{molTrolox/g dm}$ y finalmente, para los taninos condensados tanto en Quebranta y Torontel liofilizadas fueron de $346,95 \pm 13,88$ y $340,43 \pm 9,41$ $\mu\text{molTrolox/g dm}$. y para secadas en frio valores de $383,43 \pm 13,61$ y $308,13 \pm 21,10$ $\mu\text{molTrolox/g dm}$.

Conclusión: Este estudio demostró que la variedad Torontel secado en frio tiene mayor capacidad antioxidante mediante el método DPPH y FRAP en polifenoles extraíbles, siendo así el secado en frio una alternativa favorable, optimizando menores costos y menores tiempos de secado en comparación al liofilizado.

Palabras clave: CQP, polifenoles, taninos, DPPH, liofilizado, FRAP.

2.1.2.AUTOR: Lourdes Fuente Marín. Facultad de Biotecnología, Universidad Europea Laureate International Universities, Villaviciosa de Odón, Madrid, España. Junio 2014.

TITULO: Estudio de la capacidad antioxidante de los polifenoles del vino y sus aplicaciones biológico - preventivas.

RESUMEN:

Los polifenoles, pertenecen a un amplio grupo de metabolitos secundarios presentes tanto en la uva como el vino. Estos compuestos han suscitado creciente interés científico en los últimos años, potenciado por el descubrimiento de sus propiedades antioxidantes y su papel en la cura de enfermedades como el cáncer, la diabetes de tipo dos, enfermedades cardiovasculares y del sistema nervioso, además de procesos inflamatorios.

Para desvelar la relación entre la composición fenólica de un vino y sus efectos sobre salud es necesario cuantificar el contenido fenólico, identificando los diferentes compuestos presentes y sus características, para así poder determinar sus efectos tanto como compuestos aislados como en sinergias. Este estudio se ha propuesto analizar la composición fenólica del vino y aquellas propiedades terapéuticas directamente relacionadas con los efectos antioxidantes de los polifenoles. Como parte del trabajo se han testado algunos de los compuestos polifenólicos presentes en el vino para evaluar su capacidad antioxidante e inhibitoria de la citotoxicidad celular, mediante ensayos de especies reactivas de oxígeno y de citotoxicidad empleando bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT).

Conclusiones:

1. Los polifenoles son buenos antioxidantes gracias a la capacidad que poseen de reducir el estrés oxidativo, y de esta forma, aumentar la viabilidad celular.
2. Algunos polifenoles como la quercetina, los aldehídos protocatéquico y conferílico, así como, los extractos de uva vitaflavan® y provinols®, reducen significativamente (más de un 20%) la síntesis de especies reactivas de oxígeno.
3. La quercetina y el aldehído protocatéquico reducen en más de un 20% las especies reactivas de oxígeno a concentraciones iguales o mayores de 100µg. El Aldehído conferílico tiene el mismo efecto a todas las concentraciones testadas (50, 100 y 250µM). De los extractos ensayados, el provinols® y el vitaflavan® reducen la concentración de especies reactivas de oxígeno a concentraciones iguales o mayores de 1000µM, el primero, y a concentraciones iguales o mayores de 500µM el segundo.
4. Algunos polifenoles como los ácidos gálico y telúrico, así como, el aldehído conferílico resultan tóxicos a altas concentraciones (iguales o mayores de 250µM). También son tóxicos a altas concentraciones (1000µM) los extractos de uva provinols® y vitaflavan®.

Palabras clave: Polifenoles, especies reactivas de oxígeno, citotoxicidad, metabolitos secundarios.

2.1.3.AUTOR: I.A. Frida Rosalía Cornejo García. Universidad Autónoma de Querétaro Facultad de Ciencias Naturales Maestría en Nutrición Humana. México. Noviembre 2012.

TÍTULO: Recuperación de compuestos fenólicos de bagazo de uva roja (*Vitis vinífera*) por microondas y métodos convencionales.

RESUMEN:

El presente estudio tiene como objetivo, evaluar el rendimiento en la extracción de compuestos fenólicos (CF) del bagazo de uva roja (*Vitis vinífera*) recuperados bajo diferentes métodos de extracción: acuoso, orgánica y microondas (MAE).

Se utilizó el bagazo de uva roja variedad Merlot, el cual se limpió, se secó, se molió y se tamizó.

Se establecieron las condiciones para realizar las extracciones acuosas y orgánicas por métodos convencionales y con extracción asistida por microondas (MAF). Se cuantificaron los fenoles totales (FT), taninos condensados (TC) y antocianinas totales (AT).

En todos los casos se determinó el efecto de la aplicación de un tratamiento físico de ultrasonido (sonicación) previo a las extracciones. Principalmente se estandarizaron las condiciones de extracción para el método acuoso.

En el caso de extracción orgánica se hizo una adaptación a la mezcla de disolventes y para la extracción asistida por microondas (MAE) se propusieron: la mezcla solventes de la extracción orgánica / etanol – acetato de etilo – agua), etanol 100%, agua 100% y mezclas etanol – agua (80:20 y 50:50) para evaluar y comparar los métodos con un enfoque de química verde.

Conclusión: Para el caso de FT, los mejores resultados se lograron utilizando la extracción orgánica convencional y la MAE etanol – agua (80:20) por 6 min. en ambos casos con sonicación. Para TC, el mejor método fue la MAE,

EtOH – H₂O en relación 80:20 por 6 min. Sin sonicar seguido de EtOH – H₂O (80:20) por 2 min. Ambos con sonicación previa. Los resultados sugieren que MAE es un método con potencial para recuperar compuestos fenólicos de bagazo de uva.

Palabras clave: Bagazo de uva, Extracción asistida por microondas, MAE, compuestos fenólicos, *Vitis vinífera*.

2.1.4.AUTOR: Tabita Aguilar, Johannes De Bruijn, Cristina Loyola, Leslie Vidal, Pedro Melín Departamento de Agroindustrias, Facultad de Ingeniería Agrícola. Universidad de Concepción. Chillán, Chile. 2014.

TÍTULO: Comparación de la capacidad antioxidante de mostos y vinos tintos del valle del Itata, Chile.

RESUMEN:

Los antioxidantes poseen la capacidad de neutralizar los radicales libres pudiendo así, ayudar en la prevención de algunas enfermedades crónicas no transmisibles.

Una fuente de antioxidantes son los frutos de la uva (*Vitis vinífera*), los cuales contienen una alta concentración y gran variedad de ellos. Siendo así, el vino tinto es una rica fuente de compuestos fenólicos que provienen principalmente de las semillas y piel de la uva; sin embargo, los procesos de vinificación producen una evolución de éstos.

Esta investigación determinó la capacidad antioxidante presente en mostos y vinos de las variedades de uva País, Cabernet Sauvignon y Syrah de una misma cosecha. La capacidad antioxidante por el método DPPH para las variedades País, Cabernet Sauvignon y Syrah en mosto fue de $6,19 \pm 0,07$; $6,50 \pm 1,34$ y $7,26 \pm 0,33$ mg L⁻¹ y en el vino de $11,62 \pm 1,30$; $19,46 \pm 0,44$ y $12,62 \pm 0,35$ mg L⁻¹, respectivamente. El método ABTS siguió la misma tendencia demostrando así, que la capacidad antioxidante es más alta en vinos que en mostos.

En los antocianinos, flavonoides y polifenoles se observó un comportamiento similar.

Conclusión: El aumento de los compuestos antioxidantes tiene directa relación con el proceso de maceración.

Palabras Claves: antioxidantes, ABTS, DPPH, fenoles, mosto, vino.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Antioxidantes

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de un sustrato oxidable, actuando como donador de electrones (agente reductor).

Todos los seres vivos que utilizan el oxígeno para obtener energía, liberan radicales libres, lo cual es incompatible con la vida a menos que existan mecanismos celulares de defensa que los neutralice.

A estas defensas se les denomina antioxidantes. Los niveles bajos de los mismos o la inhibición de las enzimas antioxidantes causan estrés oxidativo y pueden dañar o matar las células.⁽³³⁾

El antioxidante es aquella sustancia que aun en concentraciones más bajas que el sustrato oxidable, disminuye significativamente o inhibe la oxidación del sustrato.

Entre las sustancias antioxidantes están los polifenoles, antocianinas y flavonoides.

Esos compuestos presentan interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana debido a las propiedades benéficas de su actividad antioxidante.⁽³⁴⁾

⁽³³⁾ Alomar M.F. Antioxidantes: captadores de radicales libres o sinónimo de salud [artículo en línea], Quito (Ecuador); [actualizado el 14 de noviembre de 2015 - consultado el 15 de Marzo del 2017]. Disponible en <http://www.soame.com/archivos/1324143195.pdf>.

⁽³⁴⁾ Ruiz N., Rincón F., Hernández V. M., Figueroa J. de D., Loarca M. G. Determinación de compuestos fenólicos y su actividad antioxidante en granos de maíz. Revista Fitotecnia Mexicana. Sociedad Mexicana de Filogenética, A.C. Chapingo (México); 2008. pp 29-34.

La presencia de antioxidantes naturales en los alimentos es importante, no sólo porque estos compuestos contribuyen a definir las características organolépticas y a preservar la calidad nutricional de los productos que los contienen, sino además, porque al ser ingeridos, ayudan a preservar (en forma considerable) la salud de los individuos que los consumen.

En efecto, la recomendación de aumentar la ingesta de alimentos ricos en antioxidantes naturales es, en la actualidad, considerada una de las formas más efectivas de reducir el riesgo de desarrollo de aquellas enfermedades crónicas no transmisibles que más limitan la calidad y expectativas de vida de la población mundial.⁽³⁵⁾

Los alimentos que tienen propiedades antioxidantes son capaces de neutralizar la acción oxidante de una entidad molecular inestable.

Los antioxidantes, por lo tanto, son un grupo amplio de compuestos: vitaminas, compuestos fenólicos, minerales, colorantes naturales y enzimas.

Muchos de los antioxidantes se encuentran en alimentos vegetales, por lo que se recomienda con efecto beneficioso incluir frutas, legumbres, tubérculos, verduras y hortalizas o cereales integrales en nuestra dieta.

Nuestro sistema de protección inmunitaria está luchando contra los radicales libres en todo momento. Millones de radicales libres bombardean diariamente nuestras células, el hecho de que necesiten tantos años para causar daños mayores se debe a la eficacia homeostática de los sistemas enzimáticos que para neutralizarlos produce nuestro propio organismo.

Este exceso supera la resistencia (capacidad de reponer su homeostasis) metabólica y no puede ya ser eliminado por el cuerpo.⁽³⁶⁾

Los antioxidantes ceden a los radicales libres sus propios electrones salvando así nuestras células de sufrir daño.

⁽³⁵⁾ Klaus R. Misiones online [Página principal de internet], Paraguay; [actualizado el 1° de abril del 2017 – consultado el 30 de Junio del 2016]. Disponible en: <http://misionesonline.net/2017/04/01/alimentos-anti-age/>.

⁽³⁶⁾ Fernández P. Barrido sistemático de la actividad antioxidante total y el contenido de compuestos fenólicos (flavonoides y fenoles totales) de alimentos vegetales del departamento de la Paz, La Paz (Bolivia); Universidad Mayor de San Andrés. [consultado el 16 de noviembre de 2011]. Disponible en: <http://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/1389/T193.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Entre los antioxidantes por excelencia encontramos al β -caroteno, la vitamina C, la vitamina E, y el selenio.

La vitamina E es un antioxidante importante en el organismo y actúa en la fase lipídica de las membranas en todas las células.⁽³⁷⁾

a) Clasificación de los antioxidantes⁽³⁸⁾

Según el mecanismo de acción: A su vez los podemos clasificar en primarios, secundarios y terciarios.

- Antioxidantes primarios: Previenen la formación de nuevos radicales libres, esto lo consiguen convirtiendo los radicales libres existentes en moléculas menos perjudiciales antes de que puedan reaccionar o evitando la formación de radicales libres a partir de otras moléculas.
- Antioxidantes secundarios: Capturan los radicales evitando las reacciones en cadena, la mayoría de estos compuestos son diarilaminas y fenoles capaces de aceptar el electrón desapareado del radical libre y de estabilizarlo en su estructura, evitando así la propagación de la cadena radicalaria.
- Antioxidantes terciarios: Reparar las biomoléculas dañadas por los radicales libres, incluyen enzimas reparadoras de ADN y la metionina sulfóxido reductasa.

Según la naturaleza: Se clasifican en enzimáticos y no enzimáticos:

- Enzimáticos:
 - Superóxido Dismutasa.- Primera línea de defensa.

⁽³⁷⁾ Olortegui V. Evaluación de antioxidantes fenólicos presentes en la corteza de *Byrsonima crassifolia* (INDANO) [Tesis]. Iquitos. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Facultad de Industrias Alimentarias; 2016.

⁽³⁸⁾ Rodríguez L.; Portillo C. Determinación de Fenoles, Flavonoides y Capacidad Antioxidante en melaza, azúcar blanco y moreno en el Ingenio Chaparrastique por el Metodo de Espectrofotometria Ultravioleta-Visible [Tesis]. El Salvador. Universidad de El Salvador. Facultad de Química y Farmacia; 2013.

- Glutación peroxidasa.- Cada una de las subunidades contiene un átomo de selenio que es esencial para su actividad.
 - Catalasa.- Cataliza la descomposición del H_2O_2 para formar agua y oxígeno, junto con la peroxidasa actúa como protector de la hemoglobina.
- No enzimáticos:
- Vitamina C.- Regenera la forma oxidada de la vitamina E.
 - Glutación.- Principal sistema de defensa a nivel intracelular frente a las agresiones oxidantes. Actúa como protector frente a la radiación y al estrés oxidativo.
 - Vitamina E.- Protege las membranas biológicas por ser liposoluble. Inhibe la fase de propagación de la cadena de la lipoperoxidación.
 - Carotenoides.- β -caroteno, posee actividad antioxidante.
 - Ácido úrico.- Potente actividad antioxidante.
 - Iones metálicos transferrina.- Quelar iones de metales responsables de la reacción de Fenton.

Además de las vitaminas, los oligoelementos como el cobre, el zinc, el manganeso, el selenio y el hierro son necesarios incorporarlos al organismo a través de la dieta, porque conforman la parte activa del núcleo de las enzimas antioxidantes.

2.2.2. Antioxidantes naturales ⁽³⁹⁾

En los últimos años, el uso de antioxidantes naturales se ha promovido y la literatura ha reconocido que la sustitución de los antioxidantes sintéticos por los naturales puede tener varias ventajas. La investigación sobre antioxidantes naturales se ha centrado principalmente en compuestos fenólicos, flavonoides, en particular, como posibles fuentes de antioxidantes naturales. Los compuestos fenólicos son agentes reductores y su potencial relacionado con la salud le ha atribuido a su capacidad antioxidante propiedades de gran alcance que pueden proteger al organismo de las reacciones de oxidación causados por radicales libres.

⁽³⁹⁾ Ibid nota 6.

Mayor interés tiene los antioxidantes naturales, que son componentes naturales de los alimentos de origen vegetal, principalmente polifenoles o compuestos fenólicos, que están de forma natural en los productos iniciales, o que se forman como consecuencia de su procesado. Los flavonoides y los ácidos fenólicos son los que reciben mayor atención como agentes potenciales antioxidantes, debido fundamentalmente a su amplia presencia en un alto número de alimentos de gran consumo.

En los últimos años diversos trabajos realizados sobre los efectos in vivo de estos compuestos han probado que una pequeña fracción de los polifenoles ingeridos en la dieta se absorbe en su forma inicial, aglicona o glicósido, mientras que la mayor parte se degradan a diferentes metabolitos. Tanto los compuestos absorbidos como los metabolitos a que dan lugar muestran capacidad antioxidante in vivo lo que indica la existencia de una especie de reacciones en cascada en las que intervienen los antioxidantes de forma diferente.

Los compuestos fenólicos se encuentran en una gran variedad de plantas comestibles, frutos, hortalizas, bebidas como té, café, cerveza y vino tinto, en el aceite de oliva, en cereales y en algunas semillas como las de leguminosas.

Las diferentes especies que contienen flavonoides poseen acciones farmacológicas muy variadas. La actividad terapéutica atribuida se resume como sigue:⁽⁴⁰⁾

- Factor antiescorbútico
- Antihemorrágicos
- Antiarrítmicos
- Protectores de la pared vascular o capilar
- Antiinflamatorios
- Antioxidantes
- Antihepatotóxicos
- Antibacterianos
- Antivíricos

⁽⁴⁰⁾ KuKlinski C. Op. Cit. p. 108.

- Antifúngicos
- Diuréticos
- Antiurémicos
- Antiespasmódicos.

2.2.3 Compuestos fenólicos ⁽⁴¹⁾

Son todas aquellas sustancias que poseen varias funciones fenol, nombre popular del hidroxibenceno, unido a estructuras aromáticas o alifáticas, es decir, presentan un anillo benceno hidroxilado como elemento común en sus estructuras moleculares, las cuales pueden incluir grupos funcionales como ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc. Casi todas las frutas y vegetales frescos, así como los granos de cereales, contienen cantidades apreciables de fenoles naturales. Los polifenoles se dividen en varias clases de acuerdo con el número de fenoles en el anillo y elementos estructurales que se unen al anillo entre sí. Los principales grupos de compuestos fenólicos son: flavonoides, ácidos fenólicos, taninos (hidrolizables y condensados), estilbenos y lignanos.

2.2.4. Flavonoides ⁽⁴²⁾

Flavo proviene del latín flavus y significa de color entre amarillo y rojo, y flavonoide, se refiere a un grupo aromático, pigmentos heterocíclicos que contienen oxígeno ampliamente distribuido entre las plantas, constituyendo la mayoría de los colores amarillo, rojo y azul de las plantas y frutas.

Por ende se encuentran en abundancia en las uvas, manzanas, cebollas, cerezas, repollos; además de ser parte del árbol ginkgo biloba y la Camellia sinensis (té verde). Siendo que al consumirlos obtengamos de ellos propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, antitrombóticas, antialérgicas, antitumorales, anticancerígenas y antioxidantes. De esta última, principalmente, radica su función en el sistema nervioso, pues se ha visto relación de protección en enfermedades neurodegenerativas.

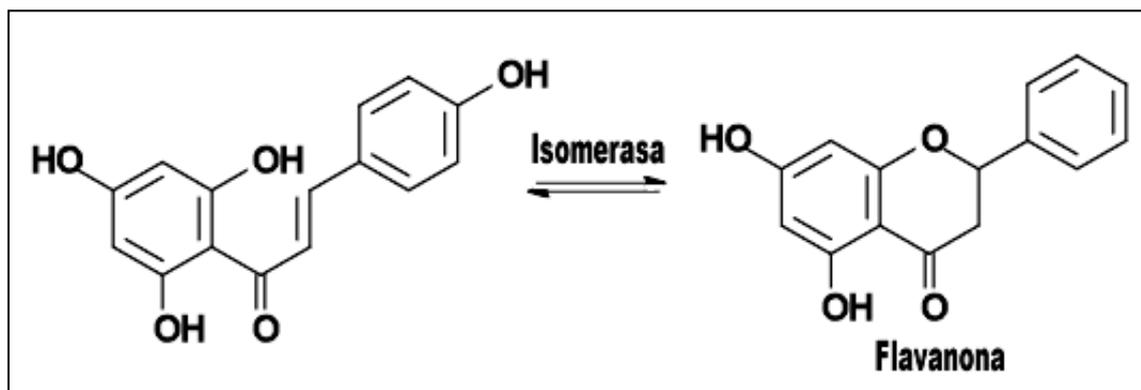
⁽⁴¹⁾ Gimeno E. Compuestos fenólicos: un análisis de sus beneficios para la salud. España. Revista OFFARM Ámbito farmacéutico nutrición; 2004.

⁽⁴²⁾ Christopher E., Elvis C., Jorge G. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. México. Revista Medigraphic artemisa. UNAM. Vol 52 N° 2. Marzo – Abril 2009.

2.2.4.1. Estructura y clasificación ⁽⁴³⁾

Los flavonoides están compuestos de dos anillos fenilos(A y B), ligados mediante un anillo pirano (C) lo cual nos deja en un esqueleto de difenilpiranos: C6-C3-C6 (figura), común en la mayoría de los flavonoides.

Figura N°1: Biosíntesis de los flavonoides



Fuente: Winkel-Shirley, B. 2001. Biosíntesis de los Flavonoides.

Los flavonoides se dividen en antocianinas y antoxantinas. Las antocianinas son las moléculas que poseen algunos pigmentos de color, como rojo, azul y morado. Antoxantinas son moléculas incoloras o de color blanco a amarillo y se subdividen en cinco grupos. Estas son las flavonas, flavonoles, flavononas (o catequinas), los isoflavononas.

2.2.4.2. Localización en los alimentos ⁽⁴⁴⁾

Los flavonoides se encuentran en numerosos frutos, plantas y semillas; logrando más de 5,000 distintos flavonoides. Por lo cual podemos encontrarlos en los siguientes grupos:

- Ácido elágico: se encuentra en frutas como la uva y las verduras.
- Antocianidinas: pigmentos responsables de los colores rojo-azulado y rojo de las cerezas.
- Catequina: se encuentra en el té negro y verde.
- Citroflavonoides: como la Quercitina, limoneno, rutina y naranjina.

⁽⁴³⁾ Vid nota 42

⁽⁴⁴⁾ Vid nota 42

- Isoflavonoides: tales como la genisteína y la daidzeína, presentes en los alimentos de soya como tofu, leche, proteína vegetal y harina.
- Kaemferol: encontrándose en brócoles, puerros, remolacha roja y rábanos.
- Proantocianidinas: que aparecen en las semillas de las uvas, en el extracto de corteza de pino marino y en el vino tinto.

El valor medio de la ingesta de flavonoides es de 23 mg al día. Y el principal flavonoide consumido es la Quercetina, siendo el té su principal fuente y el valor medio de ingesta diaria es de 16 mg por día.

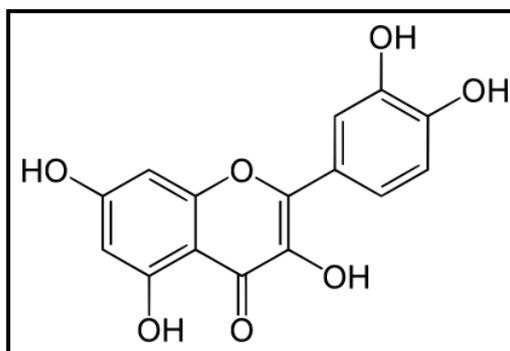
2.2.5. Quercetina ⁽⁴⁵⁾

2.2.5.1. Concepto

La quercetina, quercitina o quercetol (fórmula molecular: $C_{15}H_{10}O_7$) es un flavonol que se encuentra en altas concentraciones tanto en frutas como en verduras.

Es el flavonoide más abundante y el más habitual en la dieta humana, destacando por su elevada actividad antioxidante, debido a que es muy abundante en las frutas cítricas se le denomina citroflavonoide.

Figura N°2: Molécula de Quercetina



Fuente: Tratado de Nutrición – Composición y calidad de los alimentos

⁽⁴⁵⁾Revista Botanical online [Página Principal de Internet]; México; [Actualizada el 30 de Octubre del 2017, consultada el 10 de Noviembre del 2017]. Disponible en: <http://www.botanical-online.com/medicinalesquercetina.htm>

2.2.5.2. Propiedades de la Quercetina

La quercetina es uno de los flavonoides más estudiados, tanto in vivo como in vitro. Se ha observado que la quercetina presenta propiedades analgésicas, antiagregantes, vasodilatadoras, antiartríticas, antibacteriales, antiherpéticas, antiinflamatorias, antigripales, antiespasmódicas, antiulcéricas, hepatoprotectoras, antidiabéticas, antiasmáticas, etc.

2.2.6. Daño a Biomoléculas como consecuencia del Estrés Oxidativo ⁽⁴⁶⁾

Estrés oxidativo se define como una situación en la que existe tanto un aumento en la velocidad de generación de especies reactivas del oxígeno como una disminución de los sistemas de defensa, lo que resulta en una mayor concentración, en estado estacionario de ROS. Es en esta situación de estrés oxidativo en la que se manifiestan las lesiones que producen los radicales libres.

Estos reaccionan químicamente con lípidos, proteínas, carbohidratos y ADN al interior de las células, y con componentes de la matriz extracelular, por lo que pueden desencadenar un daño irreversible que, si es muy extenso, puede llevar a la muerte celular.

Estos son ejemplos de algunas enfermedades o procesos asociados al daño oxidativo en las moléculas biológicas:

- Envejecimiento: Los radicales libres toman un electrón de las células del tejido de colágeno, provocando que pierda la elasticidad y como consecuencia la aparición de arrugas y sequedad.
- Enfermedades del corazón: los radicales libres dañan las grasas de la ingesta, llamada “grasa oxidada”, la grasa oxidada es grasa más pegajosa, por lo que se adhiere a las paredes de las arterias con mayor facilidad y pudiendo causar un infarto al miocardio.
- Diabetes: Disminución de la secreción de insulina en el páncreas por interferencia de los radicales libres.
- Cataratas: Modificaciones irreversibles en las proteínas.

⁽⁴⁶⁾ Ibid nota 6.

- Cuadros inflamatorios crónicos: Activación de genes relacionados con la respuesta inflamatoria.
- Enfermedades neurodegenerativas: Radicales libres de oxígeno inducen apoptosis y desdoblamiento de proteínas.

2.2.7.Productos en estudio

2.2.7.1. Mosto u Orujo de uva ⁽⁴⁷⁾

En la cáscara de las uvas tintas se encuentran diferentes sustancias antioxidantes, como las flavonas (que están también presentes en otros alimentos como el té, las cebollas, las manzanas).

De entre las sustancias benéficas se descubrió que el hollejo de las uvas tintas contiene un amplio rango de compuestos fenólicos.

Concretamente ácidos fenólicos, flavonoides y resveratrol que tienen una gran capacidad de proteger a las lipoproteínas LDL de la oxidación (inhiben el colesterol “malo”, que una vez oxidado pasaría a formar una placa de aterosclerosis en la pared de las arterias).

Una copa de vino tinto en las comidas contribuye a evitar que las plaquetas sanguíneas se aglutinen.

Figura N°3: Mosto u orujo de uva variedad Borgoña



Fuente: Elaboración propia

⁽⁴⁷⁾ Vid nota 12.

2.2.7.2. Composición del Mosto ⁽⁴⁸⁾

En términos generales el mosto se compone de:

1. Azúcares: Son azúcares naturales y son glucosa y fructosa, son el alimento de las levaduras para realizar el proceso de la fermentación, transformándose en alcohol.
2. Polifenoles: Se suelen localizar en el hollejo (piel) y las pepitas. Los más importantes son los flavonoles, propios de las variedades blancas, los antocianos, localizados en la piel de la uva y responsables del color de los vinos tintos, y los taninos. Los dos últimos son muy importantes para la posterior crianza de los vinos.
3. Ácidos orgánicos: Tartárico, málico y cítrico, de los cuales dependerá la acidez del vino.
4. Sustancias pécticas: Derivadas de algunos ácidos de los tejidos vegetales.
5. Sustancias nitrogenadas: importantes para el buen desarrollo de la fermentación del mosto.
6. Sustancias minerales, enzimas, vitaminas: son minoritarias, pero muy importantes para el correcto transcurso de la fermentación.

Figura N° 4: Mosto de vid



Fuente: Elaboración propia

⁽⁴⁸⁾ Viveros Barber. Vitivinicultura [Página Principal de Internet], Valencia (España) [consultado el 18 de Junio del 2016]. Disponible en: <http://www.vitivinicultura.net/mosto-de-uva.html>; 2014.

2.2.8. Gelatina ⁽⁴⁹⁾

La gelatina o gnetina es una sustancia derivada de la transformación del colágeno animal. Comercialmente, de donde más proviene es de pieles de ganado vacuno y de cerdo. En su forma más básica, la gelatina comestible procesada para el comercio es en polvo o gránulos, sin sabor, de color amarillo pálido. Se compone principalmente de proteína, con un pequeño porcentaje de sales minerales y agua. La extracción del colágeno a partir de la materia prima de origen animal para producir gelatina comercial requiere un proceso que implica las etapas de cocción y remojo en una solución fuerte de ácido para liberar o hidrolizar la proteína. Una vez extraída, a continuación la proteína se seca. La gelatina se puede encontrar en forma de hojas o de gránulos o en polvo. Su vida útil es larga, siempre que se mantenga a una temperatura regulada y protegida de la humedad.

Como se refina a partir de productos de origen animal, se usan las pautas de procesamiento estrictas para asegurar la pureza y la calidad del producto acabado. La gelatina pasa numerosas pruebas que examinan la presencia de agentes patógenos, contaminantes y otras impurezas.

La gelatina comestible es extraordinariamente versátil. A parte de en los postres populares, se encuentra en una increíble variedad de productos alimenticios. En la industria de alimentos procesados, se utiliza como espesante, agente gelificante, estabilizador y emulsionante.

Las diversas propiedades de la gelatina tales como su capacidad en la formación de películas flexibles, plásticas y duras, actúan como agente coloidal y ligante, la convierten en una de las más versátiles materias primas para la elaboración de cápsulas blandas o duras, tabletas, emulsiones, y otros variados productos farmacéuticos. Para la dosificación de medicamentos, las cápsulas son una de las formas más comunes. El film de la gelatina enmascara completamente el sabor y/o el olor de las drogas incluidas, protegiéndolas también del medio ambiente. Se utilizan cápsulas duras o blandas, dependiendo de la naturaleza de la sustancia que debe ser encapsulada. Las cápsulas blandas son las más adecuadas para rellenarlas con líquidos o sustancias oleosas, mientras que las duras son generalmente utilizadas para sólidos.

⁽⁴⁹⁾ Revista del Consumidor. Calidad de Polvos para gelatina y flan. México; 2001.

También se usa en la industria fotográfica como base para la emulsión de cristales de haluros de plata (la parte sensible a la luz) de las películas y papeles fotográficos. Gracias a la gelatina pueden fabricarse las películas para aficionados, papel de color, películas gráficas y películas de rayos X en cantidades industriales. El consumo regular de la gelatina provee en sus ingredientes algunos beneficios relacionados con la salud. Ayuda con los problemas tales como: gastritis, cólicos, colitis, hiperacidez, entre otros, mejorando la mala digestión por mencionar una de sus características de tan conocido postre. Para casos muy particulares, a gelatina se incluye en la alimentación como una dieta blanda recomendada para los infantes, personas de la tercera edad, enfermos o personas que se encuentran bajo un régimen alimenticio en particular.

2.2.9. Método a utilizar para la determinación de compuestos fenólicos totales.

2.2.9.1. Espectrofotometría ⁽⁵⁰⁾

La espectrofotometría es uno de los métodos de análisis más usados, y se basa en la relación que existe entre la absorción de luz por parte de un compuesto y su concentración.

El método espectrofotométrico se rige por la ley combinada de Beer-Lambert, también conocida como ley de Beer o ley de Beer-Lambert-Bouguer es una relación empírica que relaciona la absorción de luz con las propiedades del material atravesado.

La ley de Beer fue descubierta independientemente (y de distintas maneras) por Pierre Bouguer en 1729, Johann Heinrich Lambert en 1760 y August Beer en 1852. En forma independiente, Wilhel Beer y Johann Lambert propusieron que la absorbancia de una muestra a determinada longitud de onda depende de la cantidad de especie absorbente con la que se encuentra la luz al pasar por la muestra.

⁽⁵⁰⁾Neyra M. Guía de seminarios y TP Química II [Artículo en línea], Chile, Universidad de Chile; 2010 [Actualizado el 23 de Agosto del 2010 – Consultado el 10 de Noviembre del 2017]. Disponible en: [file:///C:/Users/WOLF/Downloads/Guia_TP_2_Quimica_II_2010%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/WOLF/Downloads/Guia_TP_2_Quimica_II_2010%20(2).pdf)

Absorbancia(A): Se define como la cantidad de energía radiante absorbida por una sustancia pura o en solución. Las mediciones de absorbancia se hacen en la zona de longitudes de onda donde se espera que absorba la sustancia problema. Si se trata de sustancias coloreadas, las mediciones se realizan en la zona visible del espectro electromagnético (380 a 800nm). En el caso de sustancias no coloreadas, las mediciones se realizan en la región ultravioleta del espectro electromagnético (200 a 380nm).

$$A = a b c$$

Donde: A = Absorbancia

a = constante de proporcionalidad (Absortividad)

b = espesor de la celda

c = concentración.

Esta ecuación indica que la absorbancia es una función lineal de la concentración, donde a es una constante de proporcionalidad llamada absortividad. La magnitud de a depende de las unidades de b y c

Curva de Calibración

Uno de los métodos más utilizados para determinar la concentración de una muestra problema, es el método de la curva de calibración. Esta curva de calibración es una gráfica que relaciona la concentración de al menos cinco soluciones de estándar de concentraciones conocidas, con la absorbancia de cada uno de ellos a la longitud de onda máxima. Una vez obtenida la gráfica se determina la función matemática que presenta dicha recta a través del tratamiento estadístico de regresión de los mínimos cuadrados, la cual relaciona la absorbancia y la concentración de un analito.

Luego se mide la absorbancia de la solución problema y se interpola su valor en la gráfica para obtener el valor de concentración del analito. La concentración de la solución problema debe estar comprendida en el rango de concentración que comprende la curva de calibración.

La medición de la absorbancia de la solución problema debe hacerse a la misma longitud de onda que fue hecha la curva de calibración.

CAPÍTULO III

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

3.1. Unidad de estudio

La unidad de estudio estuvo constituida por la Gelatina enriquecida con polvo de mosto de vino.

3.2. Tamaño de la muestra representativa:

El tamaño de la muestra representativa fue de 180 g. que es el contenido de cada paquete.

3.3. Análisis e interpretación de resultados

Los resultados obtenidos, son presentados en función del cumplimiento de los objetivos planteados en la presente investigación, siguiendo el orden cronológico del proceso de estudio.

3.3.1. Análisis Organoléptico del polvo de mosto de vino:

Cuadro N° 4: Descripción de las características organolépticas del mosto

Características Organolépticas	Polvo de mosto
Color	Morado
Olor	Uva fermentada
Sabor	Amargo
Aspecto	Granulado

Fuente: Elaboración Propia

En el cuadro se puede evidenciar, las características organolépticas del mosto de vino, el cual, no tiene estándares de referencia con los que se puede comparar, son propios del fruto.

De los datos que presenta el cuadro se puede desprender que el olor del polvo de mosto de vid es característico a uva fermentada; el color fue un polvo morado debido a la presencia de las cáscaras de la uva; el sabor, fue amargo y el aspecto granulado debido al contenido de fibra que se podía apreciar al momento de manipularlo.

3.3.2. Análisis Fitoquímico del polvo de mosto de vino:

1) Análisis cualitativo de flavonoides en el polvo de mosto de vino:

Cuadro N° 5: Identificación de Flavonoides en el mosto de vino

Ensayo	Coloración	Interpretación
Reacción de Shinoda	Verde azulado	Flavonol, Flavononas
Prueba con H ₂ SO ₄	Roja	Calconas o auronas, Flavononas

Fuente: Elaboración propia

Según lo expuesto en el cuadro N°5, al aplicar los ensayos correspondientes, se logró identificar en el polvo de mosto de vino, la

presencia de flavonoides, ya que pudo observarse el cambio de coloración al aplicar ambos ensayos..

En la reacción de Shinoda se observó la separación de fases y la coloración verde azulado, con lo cual se infiere que la muestra tiene en su composición flavonol y flavononas. En el ensayo con H₂SO₄ (ácido sulfúrico concentrado) se obtuvo una coloración roja, lo cual indica la presencia de flavononas y calconas o auronas.

2) Determinación de flavonoides en el polvo de mosto de vino:

Este dato fue primordial conocerlo, para poder adicionar a la gelatina la cantidad necesaria de polvo de mosto y así poder enriquecerla.

En primer lugar se procedió a realizar la lectura de las absorbancias de la Quercetina patrón; y luego de la muestra de polvo de mosto de vino en el espectrofotómetro, a una longitud de onda de 434 nm, obteniéndose los valores que se muestran en la tabla siguiente:

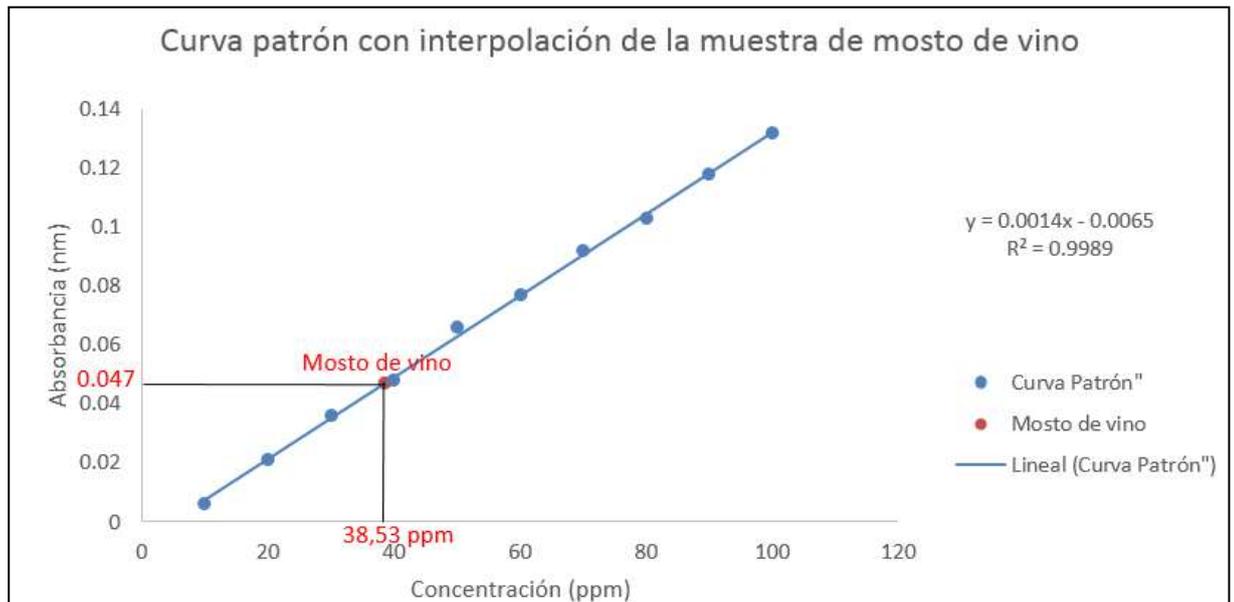
Tabla N° 1: Resultados de lectura de espectrofotómetro de la sustancia patrón quercetina y del polvo de mosto de vino

	Concentración (ppm)	Absorbancia (nm)
Estándar de Quercetina	10	0.006
	20	0.021
	30	0.036
	40	0.048
	50	0.066
	60	0.077
	70	0.092
	80	0.103
	90	0.118
	100	0.132
	Muestra: Mosto de vino	38.53

Fuente: Elaboración propia

Los datos mostrados en la Tabla N°1 y que se pueden apreciar en la página anterior, se utilizaron para generar en Excel la curva patrón y a la vez interpolar el valor obtenido de la muestra de polvo de vino, estos resultados se muestran en el gráfico siguiente:

Gráfico N° 1: Curva patrón con la interpolación de la muestra de mosto de vino



Fuente: Elaboración propia

El gráfico número 1 nos muestra la Curva patrón de Quercetina, donde se puede observar la línea de tendencia así como los valores de la ecuación de la recta, que nos muestra la pendiente y el origen del gráfico.

También se aprecia el valor de R² que es el coeficiente de determinación el cual nos dice que tan cerca están estos puntos a la línea de la pendiente y entre más se alineen o cercanos sean, quiere decir, que hay una correlación más exacta y precisa de los valores de absorbancia correlacionados con los valores de las concentraciones, el valor de R² obtenido en esta curva patrón, fue de 0,9989 por lo tanto, es un buen medio para interpolar los valores y determinar la concentración de flavonoides a partir de este marco de referencia.

Luego de interpolar la absorbancia obtenida, en el mosto de vino, el cual fue de 0,047; la concentración de flavonoides en este caso Quercetina hallada en la muestra de estudio, fue determinada aplicando el método de regresión lineal simple, tomando los valores de concentración y absorbancia conocida de la quercetina patrón y añadiendo el dato de la absorbancia leída de la muestra, éste dio un valor de concentración de 38,53 ppm es decir **38,53 mg/L** de quercetina.

Teniendo este valor de referencia se procedió a efectuar los cálculos correspondientes para conocer la cantidad de mosto de vid, que debía agregarse a la formulación de la gelatina, para poder enriquecerla, sabiendo por teoría que la cantidad requerida por el organismo de quercetina es de 16 mg/día.

Obteniendo como resultado que debía agregarse 16,61 g de mosto de vino a cada 180 g de polvo de gelatina.

Como la muestra es de 1406,95 g. entonces a esta formulación en general se agregó **129,83 g.** de mosto de vino para poder enriquecer la gelatina.

3.3.3. Análisis fisicoquímico del polvo de mosto de vino:

Cuadro N° 6: Determinación de las características fisicoquímicas del mosto de vino

Características Fisicoquímicas	Resultado	Límites permisibles
pH	3,5	< 4.5
Humedad	11.81 %	10 – 12 %
Cenizas	0.60 %	< 5%

Fuente: Elaboración propia

Se describió que el pH fue de 3,5 lo cual indica que es una sustancia ácida según lo especifica la Norma Sanitaria Peruana N° 071 actualizada de la Resolución Ministerial N° 615-2003-SA/DM. (Anexo 12)

El resultado obtenido en la determinación de humedad fue de 11.81 %, valor que está dentro del rango de límites permisibles, indicando que el secado de la muestra se realizó en condiciones adecuadas, debido a que el contenido de humedad permite que se conserven los principios activos, que es lo que necesitamos para el presente estudio. Revisar el anexo 11.

El valor obtenido en la determinación de cenizas fue de 0.60 %, lo que se encuentra dentro del rango de límites permisibles, lo que nos indica que contiene pocas sales minerales en su composición. Revisar el anexo 11.

3.3.4. Formulación y elaboración de la gelatina

–Se preparó la gelatina siguiendo la formulación que se observa en el cuadro que se muestra a continuación, el cual ya tiene incluido la cantidad de polvo de mosto de vino:

Cuadro N° 7: Formulación para elaborar la gelatina

Materia Prima	Cantidad (g)	Función
Azúcar blanca refinada	1250,00	Edulcorante
Ácido fumárico	9,00	Antiaglutinante
Citrato de sodio	7,00	Regulador de la acidez
Acido cítrico	1,70	Acidulante
Color chicha morada	0,05	Colorante
Sabor uva	4,20	Saborizante
Colapiz o gelatina incolora	135,00	Gelificante
Polvo de mosto de vino	129,83	Antioxidante
TOTAL	1536,78	

Fuente: Elaboración propia

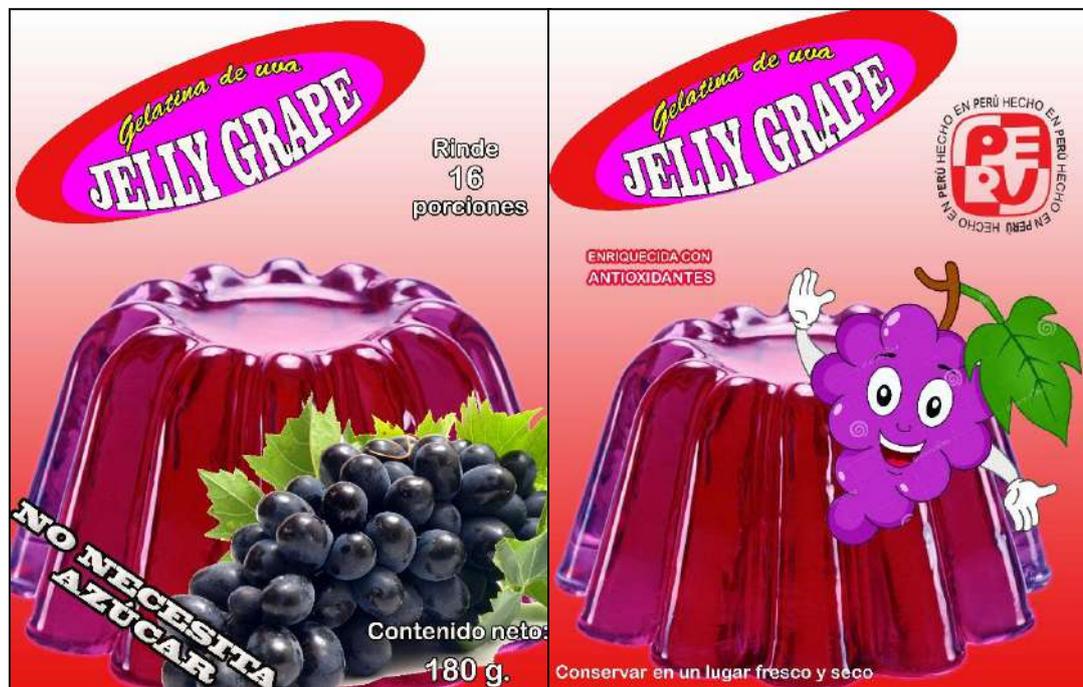
–Se mezclaron todos los insumos descritos en la tabla anterior, de tal manera que el producto quedara homogéneo.

–La cantidad obtenida de producto fue de 1536,78 g, el cual se procedió a pasar por un por un tamiz de 600 µm (número 30) y luego se separó en

porciones de 180 g cada una, obteniéndose así 8 (ocho) unidades de gelatina.

- Se utilizó 5 (cinco) unidades ó paquetes, como muestra del lote, para realizar la cuantificación de flavonoides y el análisis microbiológico, fisicoquímico y organoléptico respectivo, luego se procedió a almacenarlo y se utilizó nuevamente después de 10 días de exposición al medio ambiente para realizar los mismos estudios y verificar así, si se produjo diferencia de resultados y los paquetes restantes se almacenaron como modelo de presentación del producto.
- Los 8 (ocho) paquetes de gelatina obtenidos, fueron debidamente embolsados y colocados en su empaque (caja) respectiva. La etiqueta del producto que será utilizado como presentación, fue de diseño y elaboración propia de acuerdo a la Norma Técnica Peruana NTP209.038 2009 (Anexo 14), y es el que se muestra a continuación:

Figura 5: Portada y contraportada de la etiqueta



Fuente: Elaboración propia

NTP 209.086:1981 (revisada el 2012) Gelatinas: Definiciones, clasificación y requisitos generales. (Anexo 8).

El cuadro nos exhibe que el valor obtenido en la determinación de humedad fue de 1,61 % en ambos días, ello indica que se encuentra dentro del rango de límites permisibles que establece la Norma Técnica Peruana NTP 209.231:1985. Postre de gelatina, para ser considerado apto para el consumo humano. (Anexo 9)

Se puede apreciar que el resultado obtenido, y que se muestra en el cuadro sobre determinación de cenizas, fue de 0.36 % en los dos días que se efectuó el ensayo, valor que se encuentra dentro del rango de límites permisibles que establece la Norma Técnica Peruana NTP 209.086:1981. Gelatinas: Definiciones, clasificación y requisitos generales (Anexo 8).

3.3.6. Determinación de flavonoides en el polvo de gelatina

Teniendo los datos de la absorbancia y la concentración del patrón de quercetina, se procedió a realizar la cuantificación de flavonoides en el polvo de la gelatina, para poder verificar si este, mantenía la presencia de la quercetina en su formulación.

Se procedió a ingresar el valor de absorbancia obtenida en cada muestra, y se procedió a hallar su concentración respectiva, utilizando regresión lineal simple, luego se obtuvo que la media de las absorbancias fue de 0,024; y la media de las concentraciones fue de 21,69 ppm.

Los datos se muestran en la tabla que se observa a continuación:

Tabla N° 2: Resultados de la concentración obtenida en la gelatina

Muestra Gelatina	Concentración (ppm)	Absorbancia (nm)
M1	21.26	0.023
M2	21.98	0.024
M3	21.98	0.024
M4	21.98	0.024
M5	21.26	0.023
Media	21.69	0.024

Fuente: Elaboración propia

Tabla N° 3: Resultados de lectura de espectrofotómetro de la sustancia patrón quercetina y del polvo de gelatina

	Concentración (ppm)	Absorbancia (nm)
Estándar de Quercetina	10	0.006
	20	0.021
	30	0.036
	40	0.048
	50	0.066
	60	0.077
	70	0.092
	80	0.103
	90	0.118
	100	0.132
Muestra de Gelatina	21,69	0.024

Fuente: Elaboración propia

Gráfico N° 2: Curva patrón con la interpolación de la muestra de gelatina



Fuente: Elaboración propia

Los datos mostrados en la Tabla N°3 se utilizaron para generar en Excel la curva patrón y a la vez interpolar el valor obtenido en el polvo de gelatina, para generar el gráfico N°2, luego de interpolar la absorbancia obtenida, en

el polvo de gelatina, el cual fue de 0,024; la concentración de flavonoides en este caso quercetina hallada fue determinada aplicando el método de regresión lineal simple, tomando los valores de concentración y absorbancia conocida de la quercetina patrón y añadiendo el dato de la absorbancia leída de la muestra, éste dio un valor de concentración de 21,69 ppm es decir **21,69 mg/L** de quercetina.

Después de realizar los cálculos respectivos se pudo determinar que cada paquete de gelatina por 180 g contenía 97,6 mg de quercetina, con lo cual se puede deducir que hay 6,01 mg de quercetina por cada porción, con lo que para poder cumplir con el requerimiento diario de quercetina que es de 16 mg por día se debería consumir 3 porciones al día de gelatina.

3.3.7. Análisis organoléptico a la gelatina:

Cuadro N° 9: Determinación de características organolépticas de la gelatina

Caracteres Organolépticos	Gelatina
Color	Uniforme Morado
Olor	Característico a Uva
Sabor	Dulce
Aspecto	Granulado fino

Fuente: Elaboración Propia

En el cuadro N° 9 se denota que el producto cumple con los parámetros establecidos en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 521:2005. (Anexo 10).

El polvo de gelatina presentó color morado uniforme, olor característico a uva, sabor dulce y aspecto granulado fino, con lo que se considera un producto apto para el consumo humano, luego al efectuar la evaluación organoléptica en la gelatina ya reconstituida, esta presentó gusto y sabor agradable, cumpliendo así con lo establecido en la Norma Técnica Peruana

NTP 209.086:1981. Gelatinas: Definiciones, clasificación y requisitos generales. (Anexo N°8)

3.3.8. Análisis microbiológico a la gelatina

Cuadro N° 10: Resultados obtenidos en el Análisis Microbiológico según la Norma DIGESA

Agente microbiano	Límite por gramo		Resultados obtenidos durante el Día 1 y Día 10	Interpretación
	m	M		
Coliformes	10	10 ²	No hubo formación de gas en la campana de Durham	Ausencia de coliformes totales y fecales
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	10 ²	No hubo crecimiento	Ausencia
Mohos	10	10 ²	No hubo crecimiento	Ausencia

Fuente: Elaboración propia

El análisis se realizó luego de tener el producto elaborado y 10 días después de almacenarlo dentro de su envase a temperatura ambiente, simulando así la forma de conservación del mismo.

Según los resultados obtenidos y que se muestran en el cuadro anterior, se observa que después de aplicar las pruebas bioquímicas a la gelatina, se pudo verificar la ausencia de agentes microbianos, ya que al efectuar los análisis requeridos por la norma DIGESA, se pudo comprobar que no hubo crecimiento bacteriano en los respectivos medios de cultivo.

Al verificarse la ausencia de agentes microbianos u organismos patógenos, demuestra que el proceso de elaboración de la gelatina, se realizó de manera técnica y en condiciones asépticas, las cuáles son necesarias para garantizar la inocuidad y calidad del producto y así poder considerarlo, apto para el consumo humano.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

PRIMERA: Se logró elaborar y enriquecer la gelatina con polvo de mosto de vino, identificando la presencia de quercetina en la gelatina con lo cual se concluye, que si es posible enriquecer el producto final.

SEGUNDA: Se identificó la presencia de flavonoides en el polvo de mosto de vino observándose el cambio de coloración al realizar el ensayo de Shinoda y de H₂SO₄ concentrando, dando como resultado un color verde azulado y rojo respectivamente.

TERCERA: Se determinó la concentración de flavonoide quercetina dando como resultado que en el polvo de mosto de vino y en el polvo de la gelatina enriquecida se encontró 38,53 mg/L y 21,69 mg/L de quercetina respectivamente, pudiendo así con estos valores, determinar que se encuentra 97,6 mg de quercetina por cada 180 g de gelatina, con lo que se concluye que si se logró enriquecer la gelatina.

CUARTA: Se pudo concluir que los resultados obtenidos en los parámetros fisicoquímicos de la gelatina elaborada fueron: pH de 4,5; humedad de 1,61 % y cenizas de 0,36 % valores que se encontraban dentro del rango de valores permisibles de acuerdo con las normas consultadas, dando como resultado que la gelatina es apta para el consumo humano.

QUINTA: Se puede concluir que las características organolépticas que presentó la gelatina enriquecida fueron: color morado uniforme, olor característico a uva, sabor dulce y aspecto granulado fino, obteniéndose así una gelatina con gusto y sabor agradable, apto para el consumo humano.

SEXTA: Se evaluó el producto final obteniendo como resultado que la gelatina enriquecida cumplió con todos los requisitos que establece la Norma Sanitaria Ambiental DIGESA, evidenciándose así ausencia total de *Staphylococcus aureus*, coliformes y mohos, lo que puede concluir que el producto se encuentra apto para el consumo humano.

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda el consumo de la gelatina enriquecida con polvo de mosto de vino, ya que a partir de los resultados obtenidos experimentalmente, se pudo concluir que el mosto de vino utilizado como materia prima brinda un importante aporte de quercetina, la cual es beneficiosa para la salud.
2. Promover el consumo de productos enriquecidos con materiales vegetales, como en este caso del mosto de vino que es un material de desecho, el que podría incluirse como materia prima en la elaboración de otros productos alimenticios.
3. Realizar un estudio posterior agregando mayor cantidad de mosto, ya que este disminuyó su cantidad al realizar la formulación del producto.
4. Realizar posteriores estudios en la gelatina, para saber cuál es la cantidad de quercetina absorbible por el cuerpo humano.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alonso B., Aragón V., Bengoechea J.A., Díaz R., Gamazo C., García I., Hernaez S., Irigoyen A., Leiva J., López Goñi I., Marrodan T., Martínez de Tejada G., Oteiza M.C., Romero I., Rubio M., Velasco J. y Vitas A. Manual Práctico de Microbiología. 2ª ed. Barcelona (España): Editorial Masson; 2003.
2. Christopher E., Elvis C., Jorge G. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. México. Revista Medigraphic artemisa. UNAM. Vol 52 N° 2. Marzo – Abril 2009.
3. Diaz R., Camargo C., López Goñi I. Manual Práctico de Microbiología. Barcelona (España): Editorial Massom; 1994.
4. Dutuligia E. Pharmacognostic Methods for Analysis of Herbal Drugs, According to European Pharmacopoeia: Loss on drying. Romania: INTECH; 2012. p. 47.
5. Gimeno E. Compuestos fenólicos: un análisis de sus beneficios para la salud. España. Revista OFFARM Ámbito farmacéutico nutrición; 2004.
6. Granados Pérez R., Villaverde Peris M. C. Microbiología. Madrid (España): Editorial Paraninfo; 1998.
7. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. Annual Review Nutrition. University of London. 1996; 16(1):33-50.
8. Hart F. L.; Análisis moderno de los alimentos. Zaragoza (España): Editorial Acribia; 1991.
9. Herrera V.S., Barreto C.A, Torres D.I., R. de Clavijo E. Química 1. Bogotá (Colombia): Editorial Norma; 1984. p. 298.
10. KuKlinski C. Farmacognosia “Estudio de las Drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural”, Primera reimpresión, Barcelona: Ediciones Omega S.A.; 2006. p. 15.

11. Less, R. Manual de análisis de alimentos. Zaragoza (España): Editorial Acribia; 1969. p.128.
12. Lock, O. 1994. Investigación Fitoquímica, Método en el Estudio de Productos Naturales. Fondo Editorial PUCP. Lima.
13. Miranda M, Cuellar A. Farmacognosia y Productos Naturales. 1°ed, La Habana (Cuba): Editorial Félix Varela; 2001.
14. Pearson. D. Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos. Zaragoza (España): Editorial Acribia S.A; 1993. Hart F. L.; Análisis moderno de los alimentos. Zaragoza (España): Editorial Acribia; 1991.
15. Rengifo J. Cuantificación de Flavonoides en el extracto etanólico de propóleos, Revista Científica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2014; vol. (1), pág. 53.
16. Revista del Consumidor. Calidad de Polvos para gelatina y flan. México; 2001.
17. Ruiz N., Rincón F., Hernández V. M., Figueroa J. de D., Loarca, M. G. Determinación de compuestos fenólicos y su actividad antioxidante en granos de maíz. Revista Fitotecnia Mexicana. Sociedad Mexicana de Filogenética, A.C. Chapingo (México); 2008. pp 29-34.
18. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Laboratorio de Alimentos I. Fundamentos y técnicas de análisis de alimentos, México: Departamento de alimentos y biotecnología; 2008.

Tesis

1. Olortegui V. Evaluación de antioxidantes fenólicos presentes en la corteza de *Byrsonima crassifolia* (INDANO) [Tesis]. Iquitos. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Facultad de Industrias Alimentarias; 2016.

2. Rodríguez L.; Portillo C. Determinación de Fenoles, Flavonoides y Capacidad Antioxidante en melaza, azúcar blanco y moreno en el Ingenio Chaparrastique por el Metodo de Espectrofotometria Ultravioleta-Visible [Tesis]. El Salvador. Universidad de El Salvador. Facultad de Química y Farmacia; 2013.

Webgrafía

1. A.KRÜSS Optronic GmbH - Informe de Aplicación Refractómetro [artículo en línea], Hamburgo (Alemania); [consultado el 08 de Enero del 2017]. Disponible en http://www.kruess.com/documents/Applikationsberichte/AP130710_001_Medicin_Brix_en_la_industria_de_bebidas_ES.pdf.
2. Alomar M.F. Antioxidantes: captadores de radicales libres o sinónimo de salud [artículo en línea], Quito (Ecuador); [actualizado el 14 de noviembre de 2015 - consultado el 15 de Marzo del 2017]. Disponible en <http://www.soame.com/archivos/1324143195.pdf>.
3. Fernández P. Barrido sistemático de la actividad antioxidante total y el contenido de compuestos fenólicos (flavonoides y fenoles totales) de alimentos vegetales del departamento de la Paz, La Paz (Bolivia); Universidad Mayor de San Andrés. [consultado el 16 de noviembre de 2011]. Disponible en: <http://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/1389/T193.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
4. Iglesias A. Centro Revidox para el estudio de la edad biológica [Página principal de internet], Alicante (España); [actualizado el 03 de julio del 2015 - consultado el 28 de agosto del 2016]. Disponible en <http://centrorevidox.com/que-es-la-oxidacion-celular/>.
5. Klaus R. Misiones online [Página principal de internet], Paraguay; [actualizado el 1° de abril del 2017 – consultado el 30 de Junio del 2016]. Disponible en: <http://misionesonline.net/2017/04/01/alimentos-anti-age/>.

6. Laboratorios Britania S.A. [Página Principal de Internet], Caba-Argentina: Britanialab.com. [Actualizada el 11 del 2015 – Consultada el 22 de Agosto del 2017]. Disponible en: <http://www.britanialab.com/productos.php>.
7. Vázquez L. VIX [Página principal de internet], España; [consultado el 30 de agosto del 2016]. Disponible en: <http://www.vix.com/es/btg/curiosidades/4335/que-son-los-radicales-libres>.
8. Ministerio de Salud [Página Principal en Internet], Perú; Dirección General de Salud e Inocuidad Alimentaria (DIGESA) NTS N° - MINS/DIGESA-V.01 - 2010 [consultado el 30 de Agosto del 2016]. Disponible en <http://www.Digesa.sld.pe/pendientes/leyes-reglamentos.aspx>. p. 19.
9. Neyra M. Guía de seminarios y TP Química II [Artículo en línea], Chile, Universidad de Chile; 2010 [Actualizado el 23 de Agosto del 2010 – Consultado el 10 de Noviembre del 2017]. Disponible en: [file:///C:/Users/WOLF/Downloads/Guia_TP_2_Quimica_II_2010%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/WOLF/Downloads/Guia_TP_2_Quimica_II_2010%20(2).pdf).
10. Norma Ecuatoriana [artículo en línea], Ecuador; Dirección General de Normas. Postre de gelatina. Requisitos. NTE INEN 1 521: 2005 [consultado el 22 de Diciembre del 2016]. Disponible en: http://www.normalizacion.gob.ec/wpcontent/uploads/downloads/2014/02/nte_inen_1521.pdf.
11. Normas Mexicanas [artículo en línea], México; Dirección General de Normas. Determinación de cenizas en alimentos. Food stuff determination of ashes. NMX-f-066-s-1978 [consultado el 23 de enero del 2017]. Disponible en <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/nmx-f-066-s-1978.pdf>.
12. Norma Mexicana [artículo en línea], México; Dirección general de Normas. Postre de gelatina vegetal de sabores. NMX-F-438-1983. Alimentos. [consultado el 22 de diciembre del 2016]. Disponible en: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-438-1983.pdf>.

13. Norma Peruana [artículo en línea], Perú; Norma Técnica Peruana 2009 – 12 - 30. 7ª Edición. Alimentos Envasados. Etiquetado. NTP 209.038 2009. [consultado el 26 de Agosto del 2016]. Disponible en: http://www.sanipes.gob.pe/documentos/5_NTP209.0382009AlimentosEnvasados-Etiquetado.pdf.

14. Revista Botanical online [Página Principal de Internet]; México; [Actualizada el 30 de Octubre del 2017, consultada el 10 de Noviembre del 2017]. Disponible en: <http://www.botanical-online.com/medicinalesquercetina.htm>.

15. Tribuladores SLU - Instrumentos de medida [Página principal de internet], España; [actualizado setiembre 15 del 2014 - consultado el 12 de diciembre del 2016]. Disponible en: <https://medidordeph.com/blog/2014/09/el-azucar-y-los-gradados-brix/>.

16. Viveros Barber. Vitivinicultura [Página Principal de Internet], Valencia (España), [consultado el 18 de Junio del 2016]. Disponible en: <http://www.vitivinicultura.net/mosto-de-uva.html>; 2014.

Anexo N° 1: Imágenes del proceso de investigación

Imagen N° 1: Acondicionamiento de la muestra para su secado en la estufa.



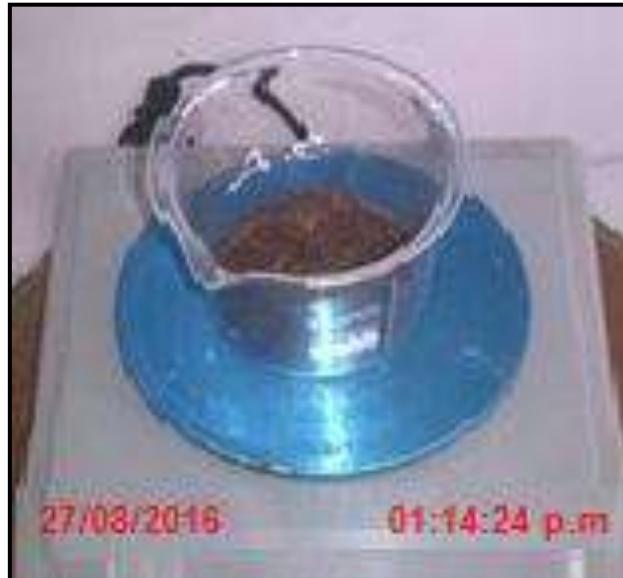
Fuente: Elaboración propia

Imagen N° 2: Muestra seca obtenida para posterior molienda.



Fuente: Elaboración propia

Imagen N° 3: Polvo obtenido de la molienda del mosto de vino.



Fuente: Elaboración propia

Imagen N° 4: Muestra en la estufa para secado de mosto y determinación de humedad.



Fuente: Elaboración propia

Imagen N° 5: Muestra en la mufla para determinación de cenizas.



Fuente: Elaboración propia

Imagen N° 6: Muestra de ceniza obtenida.



Fuente: Elaboración propia

Imagen N° 7: Reacción Shinoda



Fuente: Elaboración propia

Imagen N° 8: Reacción con ácido sulfúrico



Fuente: Elaboración propia

Imagen N° 9: Muestras listas del polvo de mosto de vino para ser leída en el espectrofotómetro.



Fuente: Elaboración propia

Imagen N° 10: Muestras listas de quercetina patrón para elaborar la curva de calibración en el espectrofotómetro.



Fuente: Elaboración propia

Imagen N° 11: Lectura de la absorbancia del mosto de vino en el espectrofotómetro.



Fuente: Elaboración propia

Imagen N° 12: Lectura del pH de la muestra de gelatina.



Fuente: Elaboración propia

Imagen N° 13: Muestras listas de la gelatina para ser leída en el espectrofotómetro.



Fuente: Elaboración propia

Imagen N° 14: Espectrofotómetro con la absorbancia leída.



Fuente: Elaboración propia

Imagen N° 15: Resultados de recuento en placa de agar Sabraud.



Fuente: Elaboración propia

Imagen N° 16: Resultados de recuento en placa de agar Manitol Salado.



Fuente: Elaboración propia

Imagen N° 17: Resultados de Coliformes totales



Fuente: Elaboración propia

Anexo N° 2: Protocolo de Análisis de saborizante uva

MONTANA

 Av. Los Rosales 290 - Santa Anita, Lima.
 Atención al cliente (511) 419 - 3030
 www.montana.com.pe

PROTOCOLO DE ANÁLISIS

Producto : **UVA SD 05350**
 N° de Lote : **573852**
 Fecha de Producción : **10/09/2016**
 Duración mínima : **10/09/2019**
 Fecha de Reporte : **15/09/2016**
 País de origen : **Perú**

ANÁLISIS	RESULTADO	ESPECIFICACIÓN	MÉTODO
Apariencia/Aspecto	: <i>Conforme</i>	<i>Polvo fino</i>	CC-MAS-001
Color	: <i>Conforme</i>	<i>Crema a beige. Se oscurece con el transcurso del tiempo sin afectar otras propiedades</i>	CC-MAS-001
Sabor	: <i>Conforme</i>	<i>Sabor característico, frutal, fuerte y aromático</i>	CC-MAS-003
*Densidad aparente (g/ml)	: <i>Conforme</i>	<i>0,40 - 0,60</i>	CC-MAF-059
Pérdida por secado/humedad (%) (105°C)	: <i>3,73</i>	<i>Máx. 8</i>	CC-MAF-076
Solubilidad	: <i>Conforme</i>	<i>Se dispersa fácilmente en agua, insoluble en alcohol y otros solventes orgánicos</i>	CC-MAF-068
Arsénico (ppm)	: <i>Conforme</i>	<i>Máx. 1</i>	AOAC
Plomo (ppm)	: <i>Conforme</i>	<i>Máx. 5</i>	AOAC

Observaciones : **Los análisis se realizan en una base periódica.*

MONTANA S.A. garantiza la calidad e inocuidad del producto.



Ing. Yohany Alvarez Ladrón de Guevara
 CIP 90203
 Jefe de Control de Calidad
 División Insumos

Anexo N° 3: Certificado de Análisis del Ácido Cítrico



WEIFANG ENSIGN INDUSTRY CO., LTD.

NO.1567,CHANGSHENG STREET,CHANGLE,WEIFANG,SHANDONG PROVINCE,CHINA

Tel: +86-536-6298125 Fax: +86-536-6234587

Certificate of Analysis

Product: Citric Acid Anhydrous 30-100MESH

Date: FEB.17,2016

Molecular Formula: $C_6H_8O_7$

Invoice No.: FZFQ151231A2

CAS No.: 77-92-9

Batch No.: 1AX1602006

Production Date: FEB.2016

Expiry Date: FEB.2019

Quantity: 75MT

PO NO.: 2015I00609-2015I00619

ITEM	Unit	Quality Standards	Analysis Results
Description	----	White or almost white, crystalline powder, colourless crystals or granules. Odorless, has a strongly acid taste. Very soluble in water, freely soluble in ethanol.	Pass
Identification	----	Pass Test	Pass
Appearance of solution	----	Pass Test	Pass
Assay	%	99.5~100.5	100.0
Moisture	%	≤0.2	0.1
Readily Carbonisable Substances	A @470nm	----	≤0.52
	T @470nm	%	≥30
Sulphate	PPM	≤150	<150
Oxalate	PPM	≤100	<100
Calcium	PPM	≤75	<75
Iron	PPM	≤5	<5
Sulphated Ash	%	≤0.05	0.02
Lead	PPM	≤0.5	<0.5
Arsenic	PPM	≤1	<1
Mercury	PPM	≤1	<1
Aluminium	PPM	≤0.2	<0.2
Heavy Metals(as Pb)	PPM	≤5	<5
Bacteria Endotoxin	IU/mg	<0.5	<0.5
Volatile Organic Impurities	----	Pass Test	Pass

Conclusion: The product is in conformity with BP/USP/FCC/E330

Signature & Stamp:



Anexo N° 4: Certificado de Análisis del Ácido Fumárico



BARTEK Ingredients Inc.

A Taste for Today and Tomorrow

CERTIFICATE OF ANALYSIS - Frutarom, Peru

FUMARIC ACID REGULAR, FOOD GRADE - FCC compliant

Customer Order No.: 2015I00381
 Bartek Invoice No.: 29063 Date of Invoice: October 21, 2016
 Manufacturing Date: October 14, 2016 Expiry Date: October 14, 2018
 Lot Number(s): 22/15 Pallet Numbers: 6350, 6351, 6353, 6361
 Unit Number Tested: 6350

TEST PERFORMED	SPECIFICATION	RESULTS
Identification by IR	Positive for Fumaric Acid	Conforms
Maleic Acid	0.1% max.	≤ 0.1%
Moisture	0.5% max.	≤ 0.5%
Residue on Ignition (Ash)	0.1% max.	≤ 0.1%
Lead	2 mg/kg max.	≤ 2 mg/kg
Assay	99.5 - 100.5%	<u>99.7%</u>
Particle Size:		
- On a US #20 mesh screen (850 micron)	1.0% max.	<u>0.0%</u>
- Through a US #120 mesh screen (125 micron)	12.0% max.	<u>3.3%</u>

Expiry date: Two years from the date of production; for extension please contact Bartek.

! NOT FOR PHARMACEUTICAL USE !
Please contact Bartek Ingredients Inc. if USP/NF Grade ingredient is required.

Analyzed By: 

Reviewed By: 

Date: October 21, 2015

Certificates of Analysis: ISO 9001:2008
 Approved By: J. Dera

Effective: March 21, 2013
 Supersedes: February 25, 2010

Malic Acid Plant/Head Office, 421 Seaman St., Stony Creek, ON Canada L8E 3J4
 Tel: (905) 662-3292 | Fax: (905) 662-8649 | www.Bartek.ca

Anexo N° 5: Certificado de Análisis del colapiz



CERTIFICADO DE ANÁLISIS

Gelita do Brasil Ltda. - Rua Phillip Leiner, 200 - Cotia, SP 06714-285 - Brasil
 Fabricado en Brasil 1520
 Su contacto: Carla Machado, Tel.: +55 11 2163 8042, Email: carla.machado@gelita.com

ORIGINAL

Cliente: Frutarom Perú S.A., Lima43, Peru
N° Pedido: 7377 **Fecha de Producción:** 30/05/2016
Lote: L602305 **Fecha de validad:** 30/05/2021

Gelatina Alimenticia de Peles
Bovinas
280 Bloom/ 30 Malla

Parámetros	Metodología	Especificación	Resultados	
Streptococcus	APHA-BAM	<= 100	0	
Bloom 6,67%	Ph.Eur., USP/NF	270 - 290	284	g
Viscosidad	6,67%, 60°C	37 - 48	40	mP
Humedad	Ph.Eur., USP/NF	8,0 - 16,0	10,1	%
pH	6,67%, 60°C	5,0 - 6,0	5,5	
Dioxido de Azufre	Monier-Williams	<= 40	12	mg/kg
Cenizas*	USP35 / GME (550°C)	<= 2,0	En conformidad	%
Zinc*	ICP-OES	<= 100,0	En conformidad	mg/Kg
Arsénico*	ICP-OES	<= 0,300	En conformidad	mg/kg
Plomo*	ICP-OES	<= 1,5	En conformidad	mg/kg
Cadmio*	ICP-OES	<= 0,5	En conformidad	mg/kg
Copper*	ICP-OES	<= 30,0	En conformidad	mg/Kg
Hierro*	Espectrofotometria	<= 100,0	En conformidad	mg/Kg
Mercurio*	AAS	<= 0,15	En conformidad	mg/Kg
Recuento Aerob. Mesóf. Totales	Ph.Eur., USP/NF	<= 1000	< 10	UFC/g
Coliformes Totales	APHA - BAM	<= 100	0	UFC/g
Escherichia coli	APHA - BAM	<= 1	0	UFC/g
Staphylococcus aureus	APHA - BAM	<= 100	0	UFC/g
Esporos Sulfito Reductores	AFNOR-NF-V59-106	<= 10	0	UFC/g
Rec. Total Hongos y Levaduras	Ph.Eur., USP/NF	<= 10	< 10	UFC/g
Salmonella sp	ISO 6579 / APHA - BAM	A	A	/50g
Enum. Bact. Gram Neg Bile-tol.	APHA - BAM	< 10	< 10	UFC/g
Granulometria	IAL adaptado	= 30,0	30,0	

* El parámetro se controla según nuestro plan de vigilancia, la seguridad de nuestro sistema de calidad.
 **** Resultado fuera de especificación, lanzamiento especial.
 La gelatina mantiene sus propiedades durante un periodo de 60 meses si está almacenado en su envase original cerrado, en condiciones típicas de almacenamiento (temperatura ambiente, lugar fresco y seco).
 Este certificado fue generado electrónicamente y por eso tiene validad sin firma.
 Marcado por: Maria Jose En: 13/06/2016

Liberación del producto
 Gestión de Materiales: Jean Batista 07/06/2016
 Aseg. de la Calidad: Patricia Santos 07/06/2016

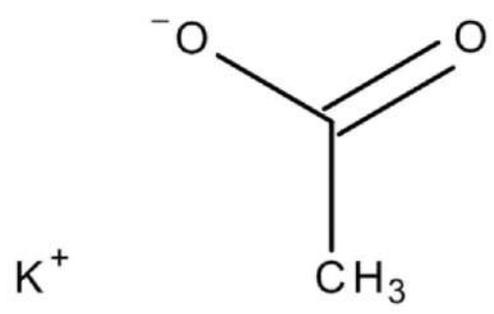
STDANA-1-16/12/2015/E2BT03-2016051200/CMACHADO/7377/13/06/2016 11:43:42

Page 1 of 1

Anexo N° 6: Certificado de Análisis del Acetato de Potasio

104820 | Potasio acetato

Potassium acetate extra pure Ph Eur, BP, JPE, E 261. Potassium acetate CAS No. 127-08-2, EC Number 204-822-2. Potassium acetate MSDS (material safety data sheet) or SDS here.

Descripción	
Número de catálogo	104820
Información del producto	
Número de CAS	127-08-2
Número CE	204-822-2
Grado	Ph Eur, BP, JPE, E 261
Fórmula Hill	C ₂ H ₃ KO ₂
Fórmula química	CH ₃ COOK
Molar Mass	98.15 g/mol
Código HS	2915 29 00
Imagen fórmula estructural	
Aplicaciones	
Aplicación	Potassium acetate extra pure Ph Eur, BP, JPE, E 261. Potassium acetate CAS No. 127-08-2, EC Number 204-822-2. Potassium acetate MSDS (material safety data sheet) or SDS here.

Anexo N° 7: Norma Sanitaria DIGESA

NTS N° - MINSA/DIGESA-V.01						
NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ⁴	10 ⁵
Coliformes	5	3	5	2	10	10 ³
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia /25 g	—
III. PRODUCTOS GRASOS.						
III.1 Mantequillas y margarinas.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10	10 ²
Coliformes	4	3	5	3	10	10 ²
Staphylococcus aureus	7	3	5	2	10	10 ²
IV. PRODUCTOS DESHIDRATADOS: LIOFILIZADOS O CONCENTRADOS Y MEZCLAS.						
IV.1 Sopas, caldos, cremas, salsas y puré de papas de uso instantáneo que no requieren cocción.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Escherichia coli	5	3	5	2	10	10 ²
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10	10 ²
Bacillus cereus	7	3	5	2	10 ²	10 ³
Clostridium perfringens (*)	8	3	5	1	10	10 ²
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia /25 g	—
Mohos	3	3	5	1	10	10 ²
(*) Sólo para productos que contengan carnes.						
IV.2 Sopas, cremas, salsas y purés de legumbres u otros deshidratados que requieren cocción.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	3	3	5	1	10 ⁴	10 ⁶
Coliformes	4	3	5	3	10	10 ²
Bacillus cereus	7	3	5	2	10 ²	10 ³
Clostridium perfringens (*)	8	3	5	1	10	10 ²
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia /25 g	—
(*) Sólo para productos que contengan carnes.						
IV.3 Mezclas en seco de uso instantáneo (refrescos, gelatinas, jaleas, cremas, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Coliformes	5	3	5	2	10	10 ²
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10	10 ²
Bacillus cereus (*)	7	3	5	2	10 ²	10 ³
Salmonella sp. (**)	10	2	5	0	Ausencia /25 g	—
Mohos	3	3	5	1	10	10 ²
(*) Sólo para productos que contengan cereales.						
(**) Sólo para productos que contengan leche, cacao y/o huevo.						
IV.4 Mezclas en seco que requieren cocción (pudines, flanes, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ⁴	10 ⁶

Anexo N° 8: NORMA TÉCNICA PERUANA NTP 209.086:1981 (revisada el 2012). Gelatinas. Definiciones, clasificación y requisitos generales.

GELATINAS. Definiciones, clasificación y requisitos generales

JELLIES. Definitions, classification and general requirements

2012-03-28
1ª Edición

PRÓLOGO

(de revisión 2012)

A. RESEÑA HISTÓRICA

A.1 La presente Norma Técnica Peruana se encuentra dentro de la relación de normas incluidas en el Plan de Revisión y Actualización de Normas Técnicas Peruanas, aprobadas durante la gestión del ITINTEC (periodo 1966-1992).

A.2 La NTP 209.086:1981 fue aprobada mediante resolución R.D. N° 296-81-ITINTEC DG/DN de 1981-11-23 y al no existir Comité Técnico de Normalización activo en el tema y considerándose que durante la etapa de discusión pública, correspondiente a 60 días calendario contados a partir del 24 de Enero del 2012, no se ha recibido opinión de dejar sin efecto la presente NTP por parte de los representantes de los sectores involucrados: producción, consumo y técnico, relacionados con el tema de tecnología alimentaria, se procede a la aprobación de su vigencia.

A.3 La Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales no Arancelarias -CNB-, aprobó mantener vigente la presente norma, oficializándose como **NTP 209.086:1981 (revisada el 2012) GELATINAS. Definiciones, clasificación y requisitos generales**, el 18 de abril de 2012.

NOTA: Cabe resaltar que la revisión de la presente NTP se ha realizado con el objetivo de determinar su vigencia, mas no su actualización.

A.4 La presente Norma Técnica Peruana reemplaza a la NTP 209.086:1981 GELATINAS. Definiciones, clasificación y requisitos generales. Las Normas Técnicas Peruanas que fueron dejadas sin efecto no figuran en la presente edición.

---0000000---

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

PRÓLOGO

A. La elaboración de la presente Norma Técnica Peruana se inició en una serie de reuniones ordinarias que se llevaron a cabo durante los años 1973 y 1974. Posteriormente fue revisada en una reunión extraordinaria que se llevó a cabo en el mes de Enero de 1981.

B. Las entidades que han participado en su elaboración son:

- F Y R Perú S.A.
- Importadora Industrial SCOP
- Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Programa Académico de Farmacia y Bioquímica
- Instituto de Investigaciones Agro-Industriales
- Municipalidad de Jesús María
- Productos Extragel Universal S.A.

---oooOooo---

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

GELATINAS. Definiciones, clasificación y requisitos generales

1. NORMAS A CONSULTAR

NTP 209.085	GELATINAS. Determinación de humedad
NTP 209.088	GELATINAS. Control microbiológico
NTP-ISO 2859-2	PROCEDIMIENTOS DE MUESTREO PARA INSPECCION POR ATRIBUTOS. Parte 2: Planes de muestreo clasificados por calidad límite (CL) para la inspección de lotes aislados
NTP-ISO 2859-3	PROCEDIMIENTOS DE MUESTREO PARA INSPECCION POR ATRIBUTOS. Parte 3: Procedimiento de muestreo por salteo de lotes
NTP 209.038	ALIMENTOS ENVASADOS. Etiquetado

2. OBJETO

2.1 La presente Norma Técnica Peruana establece las definiciones, clasificación y requisitos generales que debe cumplir la gelatina alimenticia, estableciendo también la técnica de muestreo para dicho producto.

3. DEFINICIONES

3.1 **gelatina:** Es la sustancia orgánica nitrogenada obtenida por hidrólisis del colágeno contenido en la piel, tejido conjuntivo blanco y huesos de animales.

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

3.2 **jalea:** Es la mezcla consistente, elástica y transparente constituida por una materia coloidea y un líquido.

3.3 **poder de gelinización:** Es la capacidad de una sustancia de formar una jalea.

3.4 **galómetro de bloom:** Es el aparato patrón para determinar la fuerza requerida para hacer que un émbolo buzo descienda a una profundidad definida en una masa gelatinosa, indicando así la consistencia de esta.

4. CLASIFICACIÓN

4.1 **Por su poder de gelinización:** La gelatina se clasificará en los tipos siguientes:

4.1.1 **Tipo I:** Gelatina cuyo poder de gelinización será superior a 180 grados Bloom.

4.1.2 **Tipo II:** Gelatina cuyo poder de gelinización será 150 grados Bloom \pm 30 grados Bloom.

4.1.3 **Tipo III:** Gelatina cuyo poder de gelinización será 100 grados Bloom \pm 20 grados Bloom.

4.1.4 **Tipo IV:** Gelatina cuyo poder de gelinización será inferior a 80 grados Bloom.

4.2 **Por su forma de presentación:** La gelatina se clasificará en:

4.2.1 **Clase A:** Gelatina en láminas.

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

4.2.2 **Clase B:** Gelatina en filamentos.

4.2.3 **Clase C:** Gelatina en escamas.

4.2.4 **Clase D:** Gelatina en trozos.

4.2.5 **Clase E:** Gelatina en pastillas.

4.2.6 **Clase F:** Gelatina en granos.

4.2.7 **Clase G:** Gelatina en polvo.

5. **REQUISITOS**

5.1 **Materia prima:** La materia prima para la fabricación de la gelatina será piel, tejido conjuntivo blanco y huesos de animales; la que será debidamente tratada para dar origen a la gelatina.

5.2 **Requisitos físicos**

5.2.1 La gelatina comestible será prácticamente insoluble en agua fría, pero deberá hincharse y ablandarse, absorbiendo de 5 veces a 10 veces su peso en agua.

5.2.2 La gelatina comestible se disolverá completamente en agua caliente formando una solución coloidal, la que al enfriarse dará una jalea.

5.3 **Requisitos químicos**

5.3.1 La solución de gelatina al 1 % tendrá un pH entre 4 y 7,5 a 20 °C .

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

5.3.2 La gelatina comestible cumplirá con los requisitos químicos especificados en la Tabla 1, basados en un contenido de humedad máximo del 16 % .

TABLA 1 - Requisitos químicos, valores máximos

Requisito	
Humedad, %	16,0
Cenizas, %	3,0
Cobre, p.p.m.	30,0
Plomo, p.p.m.	2,0
Zinc, p.p.m.	100,0
Fierro, p.p.m.	100,0
Anhidrido sulfuroso, p.p.m.	200,0
Arsénico, p.p.m.	1,0

5.4 Requisitos microbiológicos

5.4.1 La gelatina alimenticia deberá cumplir con los requisitos microbiológicos que se indican en la Tabla 2.

TABLA 2 - Requisitos microbiológicos, valores máximos

Requisito	
Recuento de gérmenes aerobios, anaerobios facultativos viables	5,000 col/g
Esporas de <i>Clostridium</i>	< 10/g
Sulfito reductor	
- Coliformes	< 10/g
- <i>E. Coli</i>	< 1/g
- <i>Salmonella</i>	Ausencia en 50 g
- <i>Staphylococcus aureus</i>	< 1/g

5.5 Requisitos organolépticos

5.5.1 La solución acuosa de gelatina al 5 % , a 60 °C , no tendrá gusto objetable ni sabor desagradable.

5.6 Almacenamiento

5.6.1 La gelatina se almacenará en lugar seco y fresco.

6. EXTRACCIÓN DE MUESTRAS

6.1 Se seleccionará al azar el número de envases indicado en la Tabla 3.

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

TABLA 3

Nº de envases del lote N	Nº de envases de donde se tomarán las muestras n
1 - 5	Todos
5 - 50	5
51 - 100	10
101 - 500	15
501 - 1 000	20

6.1.1 Estos envases se refieren tanto a los envases que contienen la gelatina suelta como a los envases que contienen envases pequeños de gelatina.

6.2 En caso de partidas mayores de 1 000 envases, se dividirá en el menor número posible de lotes iguales.

6.3 Tamaño de la muestra primaria: La muestra primaria tendrá un peso equivalente al 1 % del peso de cada envase seleccionado para la extracción de muestra.

6.4 Extracción de muestra primaria

6.4.1 Todos los instrumentos que se utilicen en la extracción de muestras deberán estar esterilizadas.

6.4.2 Envases que contienen envases pequeños: Se seleccionará al azar el número de envases pequeños correspondientes al peso indicado en el apartado 6.3.

6.4.3 Láminas, trozos y pastillas: Se extraerán unidades al azar dentro de cada envase seleccionado.

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

6.4.4 Polvo, granos, escamas, filamentos: Se extraerá la muestra primaria, mediante una sonda, un cucharón u otro instrumento apropiado, de la parte superior, media e inferior del envase.

6.5 Se colocará la muestra primaria en recipientes limpios, secos y no absorbentes.

6.6 Tamaño de la muestra global: La muestra global tendrá un peso de aproximadamente 1 kg .

6.7 Obtención de la muestra global

6.7.1 Envases que contienen envases pequeños: La muestra global estará constituida por todos los envases pequeños seleccionados. Estos envases se abrirán sólo en el laboratorio y podrá reducirse el tamaño de la muestra según lo especificado en el apartado 6.6.

6.7.2 Láminas, trozos, pastillas: Se sacará una parte de cada unidad y se reducirá la muestra al tamaño especificado en el apartado 6.6, por mezcla y cuarteo.

6.7.3 Polvo, grano, escamas, filamentos: Se mezclarán cuidadosamente las muestras primarias y se reducirá la muestra por mezcla y cuarteo.

6.8 Se dividirá la muestra global en tres partes, una destinada al propietario, otra destinada a análisis para comprobar las características del lote y la tercera se guardará para casos de arbitraje. Cada una de ellas estará colocada en recipientes limpios, no absorbentes.

6.8.1 Las muestras destinadas al análisis microbiológico, se extraerán en máximas condiciones de asepsia.

- a) Cuando la gelatina originalmente se presente en envases pequeños, deberá permanecer en éstos hasta su llegada al laboratorio de análisis.

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

- b) Cuando la gelatina originalmente se presenta suelta; tanto las muestras primarias como la muestra global se colocarán en recipientes estériles, secos, limpios, herméticos y no absorbentes.

6.9 Inspección:

6.9.1 La inspección para la recepción se efectuará en el lugar de producción o almacenamiento del producto, por un inspector autorizado, en presencia del productor o su representante.

6.9.2 El inspector efectuará las operaciones siguientes:

- a) Comprobará las condiciones de los envases, pesos y rótulos.
- b) Extraerá muestras según lo indicado anteriormente en esta NTP, las que se someterán a análisis de laboratorio para controlar el cumplimiento de los requisitos.
- c) Clasificará y calificará el producto de acuerdo a lo inspeccionado.

6.10 Recepción

6.10.1 Si el producto inspeccionado concuerda con lo indicado en el rótulo de los envases y con los requisitos de esta NTP, se aceptará el lote.

6.10.2 En caso que el producto no concuerde con el rótulo de los envases pero si con algunos de los requisitos especificados en esta NTP, el lote podrá rotularse nuevamente.

6.10.3 Si el producto inspeccionado no cumple con los requisitos de esta NTP, se rechazará el lote.

6.11 Una vez revisado el lote, el inspector autorizado informará al organismo competente la aprobación o rechazo del lote, para que éste otorgue el certificado correspondiente.

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

6.12 Rotulado de la muestra: El rótulo deberá ser asegurado convenientemente a las muestras y llevará las siguientes indicaciones:

6.12.1 Muestra de (tipo y clase) y número de orden.

6.12.2 La designación y marca del producto.

6.12.3 Número del lote.

6.12.4 Masa o número de unidades que forman la muestra.

6.12.5 Procedencia del producto.

6.12.6 El lugar, la fecha y la hora en que haya sido tomada la muestra.

6.12.7 El método exacto seguido en la toma de muestras, si éste se apartara del método normal establecido.

6.12.8 Las firmas de las partes interesadas debiéndose indicar cualquier otra información que sea necesaria.

7. MÉTODOS DE ENSAYO

7.1 Los ensayos se efectúan según las NTP indicadas en el capítulo 1 y según las Normas Técnicas correspondientes.

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

8. ROTULADO Y ENVASE

8.1 Rotulado

8.1.1 El rótulo deberá cumplir con lo establecido en la NTP 209.038.

8.2 Envase

8.2.1 La gelatina se envasará en envases capaces de protegerla de la contaminación, humedad y de sustancias tóxicas.

8.2.2 Podrá usarse bolsas de plástico, autorizado para alimentos, papel encerado o láminas de aluminio.

9. ANTECEDENTES

9.1 AFNOR. NF V 59-001 Gélatine Alimentaire Spécifications, Paris - France. 1962.

9.2 AFNOR NF V 59-002 Gélatine Alimentaire Echantillonnage, Paris. 1962.

Anexo N° 9: NORMA TÉCNICA PERUANA NTP 209.231:1985 (revisada el 2017) POSTRE DE GELATINA

NORMA TÉCNICA
PERUANA

NTP 209.231
1985 (revisada el 2017)

Dirección de Normalización - INACAL
Calle Las Camelias 817, San Isidro (Lima 27)

Lima, Perú

POSTRE DE GELATINA

JELLY DESSERT

2017-06-15
1ª Edición

R.D. N° 023-2017-INACAL/DN. Publicada el 2017-07-12

I.C.S.: 67.040

Descriptores: Gelatina, postre

Precio basado en 07 páginas

ESTA NORMA ES RECOMENDABLE

© INACAL 2017

© INACAL 2017

Todos los derechos son reservados. A menos que se especifique lo contrario, ninguna parte de esta publicación podrá ser reproducida o utilizada por cualquier medio, electrónico o mecánico, incluyendo fotocopia o publicándolo en el internet o intranet, sin permiso por escrito del INACAL.

INACAL

Calle Las Camelias 817, San Isidro
Lima - Perú
Tel.: +51 1 640-8820
administracion@inacal.gob.pe
www.inacal.gob.pe

PRÓLOGO

(de revisión 2017)

A.1 La Norma Técnica Peruana (NTP) **NTP 209.231:1985 (revisada el 2012) POSTRE DE GELATINA**, 1ª Edición, se incluyó en el Programa de Actualización de Normas Técnicas Peruanas.

A.2 La NTP referida, aprobada mediante resolución N°0053-2012/CNB-INDECOPI, al no contar con ningún Comité Técnico de Normalización activo, fue revisada y puesta a consulta pública por un periodo de 30 días calendario. No recibió observaciones por parte de los representantes de los sectores involucrados: producción, consumo y técnico.

A.3 La Dirección de Normalización (DN), procedió a mantener su vigencia, previa revisión final, aprobando la versión revisada el 15 de junio de 2017.

NOTA: Cabe resaltar que la revisión de la presente NTP se ha realizado con el objetivo de determinar su vigencia, mas no su actualización.

A.4 Los métodos de ensayo y de muestreo cambian periódicamente con el avance de la técnica. Por lo cual, recomendamos consultar en el Centro de Información y Documentación del INACAL, la vigencia de los métodos de ensayo y de muestreo en esta NTP.

A.5 La presente Norma Técnica Peruana reemplaza a la NTP 209.231:1985 (revisada el 2012) POSTRE DE GELATINA, 1ª Edición.

PRÓLOGO

(de revisión 2012)

A. RESEÑA HISTÓRICA

A.1 La presente Norma Técnica Peruana se encuentra dentro de la relación de normas incluidas en el Plan de Revisión y Actualización de Normas Técnicas Peruanas, aprobadas durante la gestión del ITINTEC (periodo 1966-1992).

A.2 La NTP 209.231:1985 fue aprobada mediante resolución R.D. N° 025-85-ITINTEC DG/DN de 1985-01-22 y al no existir Comité Técnico de Normalización activo en el tema y considerándose que durante la etapa de discusión pública, correspondiente a 60 días calendario contados a partir del 24 de Enero del 2012, no se ha recibido opinión de dejar sin efecto la presente NTP por parte de los representantes de los sectores involucrados: producción, consumo y técnico, relacionados con el tema de Tecnología alimentaria se procede a la aprobación de su vigencia.

A.3 La Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales no Arancelarias -CNB-, aprobó mantener vigente la presente norma, oficializándose como **NTP 209.231:1985 (revisada el 2012) POSTRE DE GELATINA**, el 09 de agosto de 2012.

NOTA: Cabe resaltar que la revisión de la presente NTP se ha realizado con el objetivo de determinar su vigencia, mas no su actualización.

A.4 La presente Norma Técnica Peruana reemplaza a la NTP 209.231:1985 POSTRE DE GELATINA. Las Normas Técnicas Peruanas que fueron dejadas sin efecto no figuran en la presente edición.

---0000000---

POSTRE DE GELATINA

1 NORMAS A CONSULTAR

NTP 207.003 ¹	AZÚCAR. Azúcar refinado. Requisitos
NTP 207.005 ²	AZÚCAR. Determinación de humedad en azúcar por pérdida en secado
NTP 209.038 ³	ALIMENTOS ENVASADOS. Etiquetado
NTP 209.086	GELATINAS. Definiciones, clasificación y requisitos generales
NTP 209.701 ⁴	ADITIVOS ALIMENTARIOS. Colorantes y agentes de retención de color. Definiciones y clasificación
NTP 350.001	TAMICES DE ENSAYO

2 OBJETO

2.1 La presente Norma Técnica Peruana establece los requisitos que debe cumplir el postre de gelatina.

¹ La NTP 207.003 fue dejada sin efecto y fue reemplazada por la NTP 207.003:2009 AZÚCAR. Azúcar refinado. Requisitos.

² La NTP 207.005 fue dejada sin efecto y fue reemplazada por la NTP 207.005:2010 AZÚCAR. Determinación de humedad en azúcar por pérdida en secado.

³ La NTP 209.038 fue dejada sin efecto y fue reemplazada por la NTP 209.038:2009 (revisada el 2014) ALIMENTOS ENVASADOS. Etiquetado.

⁴ La NTP 209.701 fue dejada sin efecto y fue reemplazada por la NTP 209.701:2016 ADITIVOS ALIMENTARIOS. Colorantes y agentes de retención de color. Definiciones y clasificación

3 DEFINICIONES

3.1 **postre de gelatina:** Es el producto alimenticio formado por la mezcla de gelatina pura comestible, azúcar, saborizantes, colorantes y otros aditivos permitidos.

4 REQUISITOS

4.1 Requisitos de materia prima

4.1.1 La gelatina empleada para preparar el postre deberá cumplir con los requisitos especificados en la NTP 209.086.

4.1.2 El azúcar empleado para preparar el postre deberá cumplir con los requisitos especificados para el azúcar industrial, en la NTP 207.003.

4.1.3 Los colorantes empleados para la preparación del postre serán los permitidos en la NTP 209.701.

4.1.4 El acidulante que se emplee en la preparación del postre deberá cumplir con lo especificado en las Normas Técnicas Peruanas correspondientes.

4.1.5 Asimismo, cualquier otro aditivo que se quiera emplear en la preparación del postre deberá cumplir con las Normas Técnicas Peruanas correspondientes y también contará con la aprobación de la autoridad sanitaria.

4.2 Requisitos físicos

4.2.1 **Tamaño de partícula:** El producto final deberá presentarse completamente homogeneizado y pasará totalmente por los tamices comprendidos entre 500 μm (N° 35) y 707 μm (N° 25).

4.2.2 Fuerza gelificante: No será menor de 60 grados Bloom .

4.3 Requisitos químicos

4.3.1 Contenido de humedad: Será como máximo de 3 % .

4.3.2 Contenido de gelatina pura: Será lo suficiente como para que el producto adquiera una fuerza gelificante de 60 grados Bloom .

4.3.3 Contenido de sacarosa: Será como máximo de 90 % .

4.3.4 Acidez: El uso de ácidos se hará en cantidades que no sean mayores que las razonablemente necesarias para lograr los efectos deseados.

4.3.5 Aditivos: Serán solamente los permitidos y se usarán en dosis de acuerdo a las prácticas correctas de fabricación.

4.4 Requisitos microbiológicos⁵

4.4.1 Recuento total, en placa, de aerobios Menor de 3 000/g

4.4.2 Numeración de hongos y levaduras osmófilas Menor de 10/g

4.4.3 Numeración de coliformes Menor de 10/g

4.4.4 Numeración de *E. coli* Menor de 1/g

⁵ Para la implementación de esta Norma Técnica Peruana se debe cumplir con los criterios microbiológicos establecidos en las disposiciones legales vigentes por la autoridad sanitaria competente

4.4.5	Numeración de <i>Clostridium</i> sulfito reductor	Menor de 10/g
4.4.6	Numeración de <i>Salmonella</i>	Ausencia
4.4.7	Numeración de <i>Staphylococcus aureus</i>	Menor de 1/g

5 EXTRACCIÓN DE MUESTRAS

5.1 Se efectuará de acuerdo a lo especificado en la NTP 209.086.

6 MÉTODOS DE ENSAYO

6.1 Preparación de la muestra: Se cieme el producto a través de los tamices comprendidos entre 500 μm (Nº 35) y 707 μm (Nº 25); esta operación se repite cuando menos dos veces.

El tamizado se recoge en un recipiente de vidrio, hule o cualquier otro material que no absorba humedad. Se debe operar lo más rápidamente posible y conservar la muestra en un recipiente herméticamente cerrado.

6.1.1 Determinación de humedad: Se efectúa de acuerdo a NTP 207.005, pero se toman 2 g de muestra.

6.1.2 Determinación de sacarosa

6.1.2.1 Reactivos

Solución de tanino. Se disuelven 5 g de tanino en 100 cm^3 de agua fría.

Solución de acetato de plomo. Se disuelven 100 g de acetato de plomo $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ en 200 cm^3 de agua. Esta solución debe ser de 30°Be .

6.1.2.2 Procedimiento

- a) Se colocan 13 g de la muestra en un matraz de 300 cm^3 a 400 cm^3 de capacidad. Se añaden 2 g de carbonato de calcio y 2 g de "ayuda filtro", se mezcla empleando una varilla de vidrio.
- b) Se añaden 175 cm^3 de agua caliente, formando con poco agua una nata al principio. Se agita totalmente y se deja reposar unos minutos para asegurar la disolución. Se enfría con agua a 30°C , se añaden agitando lentamente, 25 cm^3 de la solución de tanino y se deja reposar durante 5 minutos. Se añaden, agitando lentamente 10 cm^3 de la solución de acetato de plomo y se filtra en papel Whatman N° 2 de 18,5 cm de diámetro.
- c) La cantidad total de líquido empleado es de 210 cm^3 , el cual se debe concentrar por evaporación a 200 cm^3 . Si la precipitación ha sido hecha correctamente, la solución debe filtrar fácilmente y el filtrado debe ser claro.
- d) Se polariza la solución empleando un tubo de 200 mm, realizando el experimento a 20°C . Si la muestra contiene azúcar reductor, se elimina el plomo con oxalato de potasio, añadiendo "ayuda filtro" y se filtra. Se coloca 50 cm^3 de la solución en un matraz aforado a 100 cm^3 , se agrega 5 cm^3 de HCl, se deja reposar durante toda la noche. Después de la inversión, se neutraliza con NaOH en solución, empleando fenoltaleína como indicador.
- e) Para hacer desaparecer el color del indicador, se agrega 1 gota de HCl 0,1 N, se enfría la solución a 20°C , se afora, se mezcla y se polariza.
- f) Se usa la siguiente fórmula de Clerget, modificada para calcular el % de sacarosa en las muestras de gelatina:

$$\text{Cálculos : } S = \frac{100(4P - 8I)}{142,66 + 0,0676(m - 13) - t/2}$$

donde:

- S = % de sacarosa
- P = lectura directa de la solución normal
- l = lectura de la solución invertida
- t = temperatura a la cual se hicieron las lecturas
- m = gramos de muestra contenidos en 100 cm³ de solución invertida

Simplificando: t = 20 °C y m = 3,25 g

$$S = \frac{100(4P - 81)}{132}$$

6.1.3 Determinación de la fuerza gelificante

6.1.3.1 Equipos

- a) Gelómetro de Bloom.
- b) Frasco de boca ancha: Con las siguientes características:
 - Capacidad 155 cm³
 - Diámetro del cuerpo:
 - Interior 59 mm
 - Exterior 66 mm
 - Altura total 85 mm

6.1.3.2 Procedimiento

- a) Se pesan 20 g de muestra en polvo y se le traspa cuantitativamente el frasco Bloom normalizado. Se adiciona con una pipeta y agitando el frasco (6.1.3.1 b), 100 cm³ de agua destilada a una temperatura de 10 °C a 15 °C .
- b) Se deja el frasco en reposo durante 15 min . Se le coloca en un baño de agua a 65 °C durante 15 min con el fin de que la solución alcance aproximadamente 62 °C ; se debe agotar la muestra para ayudar a la formación de una solución homogénea.
- c) Se invierte varias veces el frasco para obtener una mezcla óptima; se le deja en reposo durante 15 min; luego se le coloca en un baño de agua a 10 °C ± 1 °C durante un periodo de 17 h .
- d) Se determina la fuerza gelificante en el gelómetro de Bloom, ajustado para dar una depresión de 4 mm y liberar el perdigón a una velocidad de 200 g por 5 s . Se debe usar como recibidor un material liviano como papel o plástico.

7 ENVASE Y ROTULADO

7.1 **Envase:** El producto deberá estar contenido en envases de material adecuado y autorizado, que protejan y aseguren su conservación.

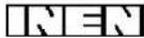
7.2 **Rotulado:** El rótulo deberá cumplir con lo especificado en la NTP 209.038, y en especial deberá indicar las instrucciones para preparar el postre.

8 ANTECEDENTES

8.1 A.O.A.C Official methods of analysis, 13^o edición Washington. USA 1980

8.2 DGN Norma Oficial de Calidad de la "Gelatina Preparada para Postre" F41-1984 México

Anexo N° 10: NORMA ECUATORIANA NTE INEN 1521- 2005

CDU: 668.317 ICS: 67.020		CIU: 312104 AL 05.02-401
Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria	POSTRE DE GELATINA. REQUISITOS	NTE INEN 1 521:2005 Primera revisión 2005-01
Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Casilla 17-01-3999 - Baquerizo Moreno E8-29 y Almagro - Quito-Ecuador - Prohibida la reproducción	<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir el postre de gelatina en sus diferentes sabores.</p> <p style="text-align: center;">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Esta norma se aplica a la mezcla en polvo para preparar postre de gelatina.</p> <p style="text-align: center;">3. TERMINOLOGIA</p> <p>3.1 Gelatina pura comestible. Es un producto sólido que se extrae por hidrólisis parcial del colágeno contenido en la piel, tejido conjuntivo y de la oseína contenida en los huesos de los animales.</p> <p>3.2 Postre de gelatina. Es el producto obtenido de la mezcla de gelatina pura comestible, azúcar y aditivos alimenticios permitidos para consumo humano.</p> <p style="text-align: center;">4. DISPOSICIONES GENERALES</p> <p>4.1 Los ingredientes utilizados en la elaboración del producto, deben ser aptos para el consumo humano y cumplir con los requisitos que establecen los documentos normativos vigentes.</p> <p>4.2 Debe utilizarse el equipo adecuado y operarse en condiciones sanitarias óptimas, a fin de evitar contaminaciones durante todo el proceso de fabricación, de acuerdo a las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM).</p> <p>4.3 Los aditivos alimenticios permitidos para la elaboración son: citrato de sodio, ácidos orgánicos, colorantes, saborizantes y espesantes según lo establece la NTE INEN 2 074.</p> <p>4.4 El producto debe estar exento de materias extrañas y no presentar alteraciones causadas por agentes biológicos, físicos o químicos.</p> <p style="text-align: center;">5. REQUISITOS</p> <p>5.1 Requisitos específicos</p> <p>5.1.1 <i>Requisitos organolépticos</i></p> <p>5.1.1.1 <i>Aspecto.</i> Granulado fino.</p> <p>5.1.1.2 <i>Color.</i> Uniforme.</p> <p>5.1.1.3 <i>Olor.</i> Característico del aroma utilizado en su elaboración.</p> <p>5.1.1.4 <i>Sabor.</i> Característico del producto y sin sabores extraños.</p> <p style="text-align: right;"><i>(Continúa)</i></p> <p>DESCRIPTORES: Gelatina, requisitos.</p>	
-1-		2003-058

Anexo N° 11: Farmacognosia métodos y análisis de Hierbas y Drogas

3.6.1 Methodology

Usually, the powdered drug is dried in an oven at 105 °C for 2 h.

When the content of essential oil is high (Carvi fructus, Eucalypti folium, Foeniculi fructus, Juniperi pseudo-fructus, Menthae piperitae folium, Zingiberis rhizoma, Thymi herba), EP recommendation is to determine the content of water (according to cap 2.2.13) and the content of essential oils (chapter 2.8.12).

3.6.2 Evaluation of results

The result is expressed as „%, m/m” or „mL/kg”.

3.6.3 Limits

Usually, the limits are about 10 - 12% (100 - 120 mL/kg).

Unusual limits (for example maximum 6% for Digitalis purpureae folium, maximum 8% for Lini semen and Syllibi mariani fructus, max. 80 mL/kg for Foeniculi amari fructus and Foeniculi dulcis fructus, and maximum 70 mL/kg for Anisi fructus) are exceptions. These lower limits are in relationship with the stability of the active compounds - cardenolic glycosides (Digitalis purpureae folium), lipids and mucilages (Lini semen), only lipids (the other upper-mentioned vegetal drugs).

In the case of Lini semen, mucilages may favor the growth of microorganisms (fungi which produce mycotoxins), if the content of water is higher.

In Digitalis purpureae folium, water may activate enzymatic systems (specific hydrolases) and so, primary cardenolic glycosides degrade to secondary cardenolic glycosides, which have less activity.

If the vegetal drug with a high content of lipids is stored in a light, hot and wet place, unsaturated fatty acids degrade (peroxidation, polymerization); the lipids are rancid.

3.7 Soluble substances

This parameter refers to all vegetal compounds which can be extracted with a certain solvent, in certain experimental conditions. When the solvent is water, the parameter calls „water-soluble extractive”. When another solvent is used, it calls „extractable matter”.

3.7.1 Methodology

Any general EP method exists. Generally, the powdered drug is extracted with the solvent (definite quantity) under the conditions specified in monograph, the solvent is evaporated, the residue is dried up to fixed mass and finally weighed.

Experimental protocols are included in table 8.

3.7.2 Evaluation of results

The result is expressed as „%, m/m”.

NTS N° 071 - MINSA/DIGESA-V.01.
NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO

1. FINALIDAD

La presente norma sanitaria se establece para garantizar la seguridad sanitaria de los alimentos y bebidas destinados al consumo humano, siendo una actualización de la Resolución Ministerial N° 615-2003-SA/DM que aprobó los "Criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano".

2. OBJETIVO

Establecer las condiciones microbiológicas de calidad sanitaria e inocuidad que deben cumplir los alimentos y bebidas en estado natural, elaborados o procesados, para ser considerados aptos para el consumo humano.

3. ÁMBITO DE APLICACIÓN

La presente norma sanitaria es de obligatorio cumplimiento en todo el territorio nacional, para efectos de todo aspecto relacionado con la vigilancia y control de la calidad sanitaria e inocuidad de los alimentos.

4. BASE LEGAL Y TÉCNICA

Base legal

- Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas, aprobado por Decreto Supremo N° 007-98-SA.

Base técnica

- Principios para el establecimiento y la Aplicación de Criterios Microbiológicos para los Alimentos del *Codex Alimentarius* (CAC/GL-21, 1997)
- Microorganismos de los Alimentos 2. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas. ICMSF. 2da. Edición. 1999.



J. HERNÁNDEZ C.

5. DISPOSICIONES GENERALES

5.1. DEFINICIONES OPERATIVAS

Para fines de la presente Norma Sanitaria se establecen las siguientes definiciones:

Alimentos aptos para consumo humano: Alimentos que cumplen con los criterios de calidad sanitaria e inocuidad establecidos por la norma sanitaria.

Alimento: Toda sustancia elaborada, semielaborada o en bruto, que se destina al consumo humano, incluido el chicle y cualesquiera otras sustancias que se utilicen en la elaboración, preparación o tratamiento de "alimentos", pero no incluye los cosméticos, el tabaco ni las sustancias que se utilizan únicamente como medicamentos.

Alimentos para regímenes especiales: Alimentos elaborados o preparados especialmente para satisfacer necesidades determinadas por condiciones físicas o fisiológicas particulares. La composición de esos alimentos es fundamentalmente diferente de la composición de los alimentos ordinarios de naturaleza análoga. Están incluidos los alimentos de uso infantil, destinados a Programas Sociales de Alimentación (PSA).

Alimento ácido: Todo alimento cuyo pH natural sea de 4,6 o menor.



C. Reyes J.

**Anexo N° 14: NORMA TÉCNICA PERUANA NTP 209.038:2009
ETIQUETADO**

NORMA TÉCNICA
PERUANA

NTP 209.038
2009

Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales No Arancelarias - INDECOPI
Calle de La Prosa 138, San Borja (Lima 41) Apartado 145

Lima, Perú

ALIMENTOS ENVASADOS. Etiquetado

PACKED FOODS. Labelling

2009-12-30
7ª Edición

R.035-2009/INDECOPI-CNB. Publicada el 2010-02-20
I.C.S.: 55.020
Descriptor: Alimentos, envasados, etiquetado

Precio basado en 17 páginas
ESTA NORMA ES RECOMENDABLE

Prohibida su reproducción total o parcial

ÍNDICE

	página
ÍNDICE	i
PREFACIO	ii
1. OBJETO	1
2. REFERENCIAS NORMATIVAS	1
3. CAMPO DE APLICACIÓN	1
4. DEFINICIONES	1
5. PRINCIPIOS GENERALES	4
6. REQUISITOS	4
7. ANTECEDENTES	17

Prohibida su reproducción total o parcial

PREFACIO

A. RESEÑA HISTÓRICA

A.1 La presente Norma Técnica Peruana ha sido elaborada por el Comité Técnico de Normalización de Alimentos envasados. Rotulado, mediante el Sistema 2 u Ordinario, durante los meses de febrero a agosto de 2009, utilizando como antecedentes a los documentos que se mencionan en el capítulo correspondiente.

A.2 El Comité Técnico de Normalización de Alimentos Envasados. Rotulado, presentó a la Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales No Arancelarias –CNB-, con fecha 2009-08-24, el PNT 209.038:2009, para su revisión y aprobación, siendo sometido a la etapa de Discusión Pública el 2009-10-24. No habiéndose presentado observaciones fue oficializado como Norma Técnica Peruana **NTP 209.038:2009 ALIMENTOS ENVASADOS. Etiquetado**, 7ª Edición, el 20 de febrero de 2010.

A.3 Esta Norma Técnica Peruana reemplaza a la NTP 209.038:2003 ALIMENTOS ENVASADOS. Etiquetado. La presente Norma Técnica Peruana ha sido estructurada de acuerdo a las Guías Peruanas GP 001:1995 y GP 002:1995.

B. INSTITUCIONES QUE PARTICIPARON EN LA ELABORACIÓN DE LA NORMA TÉCNICA PERUANA

Secretaría	Sociedad Nacional de Industrias
Presidente	Gabriela Lock - DSM Nutritional Products Perú S.A
Secretario	Rolando Piskulich

ENTIDAD

REPRESENTANTE

Ajinomoto del Perú S.A.

Gianina Céspedes

ASPEC

Carla Rodríguez

CERPER S.A.	Gloria Reyes Nelly Cornejo
Coca Cola Servicios del Perú	Javier Echegaray
Consultor	Victor Meneses
Comité Técnico de Normalización de Alimentos Irradiados	Carlos Del Valle
Comité de Fabricantes y Mejoradores de Masa para Panificación	Carlos Medrano
DIGESA	Pilar Caballero
Estudio Muñiz, Ramirez, Pérez-Taiman & Luna Victoria S.R.L	Maritza Reategui
Kraft Foods Peru S.A	Luciana Cabrera
Gloria S.A	Ricardo Alvarado
Comité de Fabricantes de Aceites y Derivados - SNI	Susana Orsini
Laive S.A	Maria Elena Leon Virginia Castillo
Mead Johnson Nutrition (Perú) S.R.L	Lucy Celi
Ministerio de la Producción	Martha Gutiérrez
Ministerio de la Producción Dirección Nacional de Extracción y Procesamiento Pesquero	Elizabeth Lucano
Molitalia S.A	Rosa Lay
Nestlé Perú S.A	Ernesto Chávez
Panadería San Jorge S.A	Milko Balsamo
SNOASC	Fidel Poma
SGS Del Perú S.A,C	Nancy Mendoza

Universidad Científica del Sur

Carla Segura

Universidad Nacional Mayor de
San Marcos - Escuela de Nutrición

Enriqueta Estrada

Universidad Nacional Mayor de
San Marcos - Centro de Investigaciones
de Bioquímica y Nutrición

Rosa Oriundo

---oooOooo---

Prohibida su reproducción total o parcial

ALIMENTOS ENVASADOS. Etiquetado

1. OBJETO

Esta Norma Técnica Peruana establece la información que debe llevar todo alimento envasado destinado al consumo humano.

2. REFERENCIAS NORMATIVAS

No hay normas específicas que sean citadas como referencias normativas en el presente texto que constituyan requisitos de esta Norma Técnica Peruana.

3. CAMPO DE APLICACIÓN

Esta Norma Técnica Peruana se aplica al etiquetado de todos los alimentos envasados que se ofrecen como tales al consumidor o para fines de hostelería y a algunos aspectos relacionados con la presentación de los mismos.

4. DEFINICIONES

Para los propósitos de esta Norma Técnica Peruana se aplican las siguientes definiciones:

4.1 **declaración de propiedades:** Cualquier representación que afirme, sugiera o implique que un alimento tiene cualidades especiales por su origen, propiedades nutritivas, naturaleza, elaboración, composición u otra cualidad cualquiera.

4.2 **consumidor:** Las personas y familias que compran o reciben alimento con el fin de satisfacer sus necesidades personales.

4.3 **envase:** Cualquier recipiente que contiene alimentos para su entrega como un producto único, que los cubre total o parcialmente, y que incluye los embalajes y envolturas. Un envase puede contener varias unidades o tipos de alimentos envasados cuando se ofrece al consumidor.

4.4 Para los fines del “marcado de la fecha” de los alimentos envasados, se entiende por:

4.4.1 **fecha de producción o fabricación:** La fecha en que el alimento se transforma en el producto descrito.

4.4.2 **fecha de envasado:** La fecha en que se coloca el alimento en el envase inmediato en que se venderá finalmente.

4.4.3 **fecha límite de venta:** La última fecha en que se ofrece el alimento para la venta al consumidor, después de la cual queda un plazo razonable de almacenamiento en el hogar.

4.4.4 **fecha de vencimiento (“consumir preferentemente antes de”):** La fecha en que, bajo determinadas condiciones de almacenamiento, expira el período durante el cual el producto es totalmente comercializable y mantiene cuantas cualidades específicas se le atribuyen tácita o explícitamente. Sin embargo, después de esta fecha, el alimento puede ser todavía enteramente satisfactorio.

4.4.5 **fecha límite de utilización (fecha límite de consumo recomendada, fecha de caducidad):** La fecha en que termina el período después del cual el producto, almacenado, en las condiciones indicadas, no tendrá probablemente los atributos de calidad que normalmente esperan los consumidores. Después de esta fecha, no se considerará comercializable el alimento.

4.5 **alimento:** Toda sustancia elaborada, semielaborada o en bruto, que se destina al consumo humano, incluidas las bebidas, goma de mascar y cualesquiera otras sustancias que se utilicen en la elaboración, preparación o tratamiento de “alimentos”, pero no incluye los cosméticos, el tabaco ni las sustancias que se utilizan únicamente como medicamentos.

4.6 **aditivo alimentario:** Se entiende cualquier sustancia que no se consume normalmente como alimento por sí mismo ni se usa normalmente como ingrediente típico del alimento, tenga o no valor nutritivo, cuya adición intencional al alimento para un fin tecnológico (inclusive organoléptico) en la fabricación, elaboración, tratamiento, envasado, empaquetado, transporte o almacenamiento provoque, o pueda esperarse razonablemente que provoque (directa o indirectamente), el que ella misma o sus subproductos lleguen a ser un complemento del alimento o afecten en sus características. Esta definición no incluye los “contaminantes” ni las sustancias añadidas al alimento para mantener o mejorar las cualidades nutricionales.

4.7 **ingrediente:** Cualquier sustancia, incluidos los aditivos alimentarios, que se emplee en la fabricación o preparación de un alimento y esté presente en el producto final aunque posiblemente en forma modificada.

4.8 **etiqueta o rótulo:** Cualquier marbete, marca, imagen u otra materia descriptiva o gráfica, que se haya escrito, impreso, estarcido, marcado, marcado en relieve o en huecograbado (bajo relieve) o adherido al envase de un alimento.

4.9 **etiquetado o rotulado:** Cualquier material escrito, impreso o gráfico que contiene la etiqueta, acompaña al alimento o se expone cerca del alimento, incluso el que tiene por objeto fomentar su venta o colocación.

4.10 **lote:** Una cantidad determinada de un alimento producida en condiciones esencialmente iguales.

4.11 **alimento envasado:** Todo alimento envuelto, empaquetado o embalado previamente, listo para ofrecerlo al consumidor o para fines de hostelería.

4.12 **coadyuvante de elaboración:** Toda sustancia o materia, excluidos aparatos y utensilios, que no se consume como ingrediente alimenticio por sí mismo, y que se emplea intencionadamente en la elaboración de materias primas, alimentos o sus ingredientes, para lograr alguna finalidad tecnológica durante el tratamiento o la elaboración pudiendo dar lugar a la presencia no intencionada, pero inevitable, de residuos o derivados en el producto final.

4.13 **alimentos para fines de hostelería:** Aquellos alimentos destinados a utilizarse en restaurantes, comedores, escuelas, hospitales e instituciones similares donde se preparan comidas para consumo inmediato.

5. PRINCIPIOS GENERALES

Los alimentos envasados no deberán describirse ni presentarse con una etiqueta o etiquetado en una forma que sea falsa, equívoca o engañosa, o susceptible de crear en modo alguno una impresión errónea respecto de su naturaleza en ningún aspecto.

Los alimentos envasados no deberán describirse ni presentarse con una etiqueta o etiquetado en los que se empleen palabras, ilustraciones u otras representaciones gráficas que se refieran o sugieran, directa o indirectamente, a cualquier otro producto con el cual pueda confundirse, ni en una forma tal que pueda inducir al comprador o al consumidor a suponer que el alimento se relaciona en forma alguna con aquel otro producto.

6. REQUISITOS

6.1 Etiquetado

En la etiqueta de alimentos envasados deberá aparecer la siguiente información según sea aplicable al alimento que ha de ser etiquetado, excepto cuando expresamente se indique algo diferente en una Norma Técnica Peruana, o en ausencia de ésta en una Norma individual del Codex.

6.1.1 Nombre del alimento

6.1.1.1 El nombre deberá indicar la verdadera naturaleza del alimento y, normalmente, deberá ser específico y no genérico.

6.1.1.1.1 Cuando se hayan establecido uno o varios nombres para un alimento en la legislación nacional, o en ausencia de ésta, en una NTP o en ausencia de ambas, en una norma individual del Codex, deberá utilizarse por lo menos uno de estos nombres.

6.1.1.1.2 Cuando no se disponga de tales nombres, deberá utilizarse un nombre común o usual consagrado por el uso corriente como término descriptivo apropiado, que no induzca a error o engaño al consumidor.

6.1.1.1.3 Se podrá emplear un nombre de “fantasía” o “de fábrica”, o una “marca registrada”, siempre que vaya acompañado de uno de los nombres indicados en los apartados 6.1.1.1.1 a 6.1.1.1.2.

6.1.1.2 En la etiqueta, junto al nombre del alimento o muy cerca del mismo, aparecerán las palabras o frases adicionales necesarias para evitar que se induzca a error o engaño al consumidor con respecto a la naturaleza y condición física auténticas del alimento que incluyen pero no se limitan al tipo de medio de cobertura (por ejemplo: salmuera, almíbar, entre otras), la forma de presentación o su condición o el tipo de tratamiento al que ha sido sometido, por ejemplo deshidratación, concentración, reconstitución, ahumado.

6.1.2 Lista de ingredientes

6.1.2.1 Deberá figurar en la etiqueta una lista de ingredientes. A excepción de alimentos de un único ingrediente,

6.1.2.2 La lista de ingredientes deberá ir encabezada o precedida por un título apropiado que consista en el término “ingredientes” o lo incluya.

6.1.2.3 Deberá enumerarse todos los ingredientes por orden decreciente de peso inicial (m/m) en el momento de la fabricación del alimento.

6.1.2.4 Cuando un ingrediente sea a su vez producto de dos o más ingredientes, dicho ingrediente compuesto podrá declararse como tal en la lista de ingredientes, siempre que vaya acompañado inmediatamente de una lista entre paréntesis de sus ingredientes por orden decreciente de proporciones (m/m). Cuando un ingrediente compuesto, para el que se ha establecido un nombre en la legislación nacional, o en ausencia de ésta, en una NTP o en ausencia de ambas, en una norma individual del Codex, constituya menos del 5 % del alimento, no será necesario declarar los ingredientes, salvo los aditivos alimentarios que desempeñan una función tecnológica en el producto acabado.

6.1.2.5 Se ha comprobado que los siguientes alimentos e ingredientes causan hipersensibilidad y deberá declararse siempre como tales:

- cereales que contienen gluten; por ejemplo, trigo, centeno, cebada, avena, espelta o sus variedades híbridas, y productos de éstos.

- crustáceos y sus productos;
 - huevos y productos de los huevos;
- pescado y productos pesqueros;
- maní, soja y sus productos;
 - leche y productos lácteos (incluida lactosa);
 - nueces de árboles y sus productos derivados;
 - sulfito en concentraciones de 10 mg/Kg o más.

6.1.2.6 En la lista de ingredientes deberá indicarse el agua añadida, excepto cuando el agua forme parte de ingredientes tales como la salmuera, el jarabe o el caldo empleados en un alimento compuesto y declarados como tales en la lista de ingredientes. No será necesario declarar el agua u otros ingredientes volátiles que se evaporan durante la fabricación.

6.1.2.7 Como alternativa a las disposiciones generales de este apartado, cuando se trate de alimentos deshidratados o condensados destinados a ser reconstituidos, podrá enumerarse sus ingredientes por orden de proporciones (m/m) en el producto reconstituido, siempre que se incluya una indicación como la que sigue; “Ingredientes del producto cuando se prepara según las instrucciones de la etiqueta”.

6.1.2.8 Se declarará, en cualquier alimento o ingrediente alimentario obtenido por medio de la biotecnología, la presencia de cualquier alérgeno transferido de cualquier de los productos enumerados en el apartado 6.1.2.5. Cuando no es posible proporcionar información adecuada sobre la presencia de un alérgeno por medio del etiquetado, el alimento que contiene el alérgeno no deberá comercializarse.

6.1.2.9 En la lista de ingredientes deberá emplearse un nombre específico de acuerdo con lo previsto en el apartado 6.1.1 (nombre del alimento).

6.1.2.10 Con la excepción de los ingredientes mencionados en el apartado 6.1.2.5 y a menos que el nombre genérico de una clase resulte más informativo, podrán emplearse los siguientes nombres de clases de ingredientes:

CLASES DE INGREDIENTES	NOMBRES GENÉRICOS
Aceites refinados distintos del aceite de oliva	“Aceite” junto con el término “vegetal o “animal”, calificado con el término “hidrogenado” o “parcialmente hidrogenado”, según sea el caso.
Grasas refinadas	“Grasas” junto con el término “vegetal” o “animal, según sea el caso.
Almidones, distintos de los almidones modificados químicamente	“Almidón”
Todas las especies de pescado, cuando el pescado constituya un ingrediente de otro alimento y siempre que en la etiqueta y la presentación de dicho alimento no se haga referencia a una determinada especie de pescado.	“Pescado”
Todos los tipos de carne de aves de corral, cuando dicha carne constituya un ingrediente de otro alimento y siempre que en la etiqueta y la presentación de dicho alimento no se haga referencia a un tipo específico de carne de aves de corral.	“Carne de aves de corral”
Todos los tipos de queso, cuando el queso o una mezcla de quesos constituya un ingrediente de otro alimento y siempre que en la etiqueta y la presentación de dicho alimento no se haga referencia a un tipo específico de queso.	“Queso”
Todas las especias y extractos de especias en cantidad no superior al 2 % en peso, solas o mezcladas en el alimento.	“Especia”, “especias” o “mezclas de especias”, según sea el caso.
Todas las hierbas aromáticas o partes de hierbas aromáticas en cantidad no superior al 2 % en peso, solas o mezcladas en el alimento.	“Hierbas aromáticas” o “mezclas de hierbas aromáticas”, según sea el caso.
Todos los tipos de preparados de goma utilizados en la fabricación de la goma de base para la goma de mascar.	“Goma de base”
Todos los tipos de sacarosa.	“Azúcar”
Dextrosa anhidra y dextrosa monohidratada.	“Dextrosa” o “glucosa”
Todos los tipos de caseinatos	“Caseinato”

CLASES DE INGREDIENTES	NOMBRES GENÉRICOS
Productos lácteos que contienen un mínimo de 50 por ciento de proteína láctea (m/m) en el extracto seco*	Proteína Láctea
Manteca de cacao obtenida por presión o extracción o refinada.	“Manteca de cacao”
Todas las frutas confitadas, cuando no excedan del 10 % del peso del alimento.	“Frutas confitadas”

* Cálculo del contenido de proteína láctea: nitrógeno (determinado mediante el principio de Kjeldahl) x 6,38

6.1.2.11 No obstante lo estipulado en el apartado 6.1.2.9, deberá declararse siempre por sus nombres específicos la grasa de cerdo, la manteca y la grasa de bovino.

6.1.2.12 Cuando se trate de aditivos alimentarios pertenecientes a las distintas clases y que figuran en la lista de aditivos alimentarios cuyo uso se permite en los alimentos en general, deberán emplearse los siguientes nombres genéricos junto con el nombre específico o el número de identificación aceptado según lo exija la legislación nacional.

- Acentuador del sabor/aroma
- Acidificante/regulador de la acidez
- Agente endurecedor
- Antiaglutinante
- Antiespumante
- Antioxidante
- Colorante
- Edulcorante
- Emulsionante
- Espesante
- Espumante

- Estabilizador
- Gasificante
- Agente gelificante
- Humectante
- Incrementador del volumen
- Leudante
- Propulsores
- Sal emulsionante
- Conservante/Conservador
- Agente de retención del color
- Agente para el tratamiento de las harinas
- Agente de glaseado

6.1.2.13 Podrán emplearse los siguientes nombres genéricos cuando se trate de aditivos alimentarios que pertenezcan a las respectivas clases y que figuren en las listas de la versión vigente del Codex de aditivos alimentarios cuyo uso en los alimentos ha sido autorizado:

- Sabor(es), saborizante(s), aroma (s) y aromatizantes(s)
- Almidón (es) modificado(s)

La expresión “sabor/aroma” podrá estar calificada con los términos “naturales”, “idénticos a los naturales”, “artificiales” o con una combinación de los mismos, según corresponda.

6.1.2.14 Coadyuvantes de elaboración y transferencia de aditivos alimentarios

6.1.2.14.1 Todo aditivo alimentario que, por haber sido empleado en las materias primas u otros ingredientes de un alimento, se transfiera a este alimento en cantidad notable o suficiente para desempeñar en él una función tecnológica, será incluido en la lista de ingredientes.

6.1.2.14.2 Los aditivos alimentarios transferidos a los alimentos en cantidades inferiores a las necesarias para lograr una función tecnológica, y los coadyuvantes de elaboración, estarán exentos de la declaración en la lista de ingredientes. Esta exención no se aplica a los aditivos alimentarios y adyuvantes de elaboración mencionados en el apartado 6.1.2.5.

6.1.3 Contenido neto y peso escurrido

6.1.3.1 Deberá declararse el contenido neto en unidades del Sistema Métrico Internacional (“Système International”).¹

6.1.3.2 El contenido neto deberá declararse de la siguiente forma:

- i) en volumen, para los alimentos líquidos.
- ii) en peso, para los alimentos sólidos;
- iii) en peso o volumen, para los alimentos semisólidos o viscosos.

6.1.3.3 Además de la declaración del contenido neto, en los alimentos envasados en un medio líquido deberá indicarse en unidades del sistema métrico el peso escurrido del alimento. A efectos de este requisito, por medio líquido se entiende agua, soluciones acuosas de azúcar, sal o, ácidas; zumos (jugos) de frutas y hortalizas en frutas y hortalizas en conserva únicamente, o vinagre, solos o mezclados.²

¹ La declaración del contenido neto representa la cantidad en el momento del empaquetado, referida a un sistema de control de calidad promedio.

² La declaración del peso escurrido debe ser aplicada por referencia a un sistema de control de la cantidad media.

6.1.4 Nombre y dirección

Deberá indicarse con fines de establecer responsabilidades, el nombre y domicilio legal del fabricante, envasador, distribuidor, importador, exportador o vendedor del alimento.

6.1.5 País de origen

6.1.5.1 Deberá indicarse el país de origen del alimento cuando su omisión pueda resultar engañosa o equívoca para el consumidor.

6.1.5.2 Cuando un alimento se someta en un segundo país a una elaboración que cambie su naturaleza, el país en el que se efectúe la elaboración deberá considerarse como país de origen para los fines del etiquetado.

6.1.6 Identificación del lote

Cada envase deberá llevar grabada o marcada de cualquier otro modo, pero de forma indeleble, una indicación en clave o en lenguaje claro, que permita identificar la fábrica productora y el lote.

6.1.7 Marcado de la fecha e instrucciones para la conservación

6.1.7.1 Si no está determinado de otra manera en una Norma Técnica Peruana, en una norma individual del Codex o ley aplicable, regirá el siguiente marcado de la fecha:

- a) Se declarará la “fecha de vencimiento”.
 - (i) Esta constará por lo menos de:
 - el día y el mes para los productos que tengan una duración mínima no superior a tres meses;
 - el mes y el año para productos que tengan una duración mínima de más de tres meses. Si el mes es diciembre, bastará indicar el año.

(ii) La fecha deberá declararse con las palabras o abreviaciones siguientes:

- “Consumir preferentemente antes del...”,”Fecha de vencimiento”, “F.V.” cuando se indica el día.
- “Consumir preferentemente antes del final de...” ...”,”Fecha de vencimiento”, “F.V.” en los demás casos.

(iii) Las palabras prescritas en el apartado ii) deberán ir acompañadas de:

- la fecha misma; o
- una referencia al lugar donde aparece la fecha.

b) El día, mes y año deberá declararse en orden numérico no codificado, con la salvedad de que podrá indicarse el mes con letras, en los países donde este uso no induzca a error al consumidor.

c) No obstante lo prescrito en el apartado 6.1.7.1 a), no se requerirá la indicación de la fecha de vencimiento para:

- frutas y hortalizas frescas, incluidas las papas que no hayan sido peladas, cortadas o tratadas de otra forma análoga.
- vinos, vinos de licor, vinos espumosos, vinos aromatizados, vinos de frutas y vinos espumosos de fruta.
- Bebidas alcohólicas que contengan el 10 % o más de alcohol por volumen;
- productos de panadería y pastelería que, por la naturaleza de su contenido, se consumen por lo general dentro de las 24 horas siguientes a su fabricación;
- vinagre;
- sal de calidad alimentaria;
- azúcar sólido;
- productos de confitería consistentes en azúcares aromatizados y/o coloreados;
- goma de mascar.

6.1.7.2 Además de la fecha de vencimiento, se indicarán en la etiqueta cualesquiera condiciones especiales que se requieran para la conservación del alimento, si de su cumplimiento depende la validez de la fecha.

6.1.8 Registro sanitario

6.1.8.1 Todo alimento comprendido dentro del alcance de la presente norma está sujeto a Registro Sanitario para su comercialización en el mercado nacional.

6.1.8.2 En el rotulado se deberá indicar el Código de Registro Sanitario de Alimentos y Bebidas, el cual es expedido únicamente por la entidad competente³.

6.1.9 Instrucciones para el uso

El etiquetado deberá contener las instrucciones que sean necesarias sobre el modo de empleo, incluida la reconstitución, si es el caso, para asegurar una correcta utilización del alimento.

6.2 Requisitos adicionales de etiquetado

6.2.1 Declaración cuantitativa de los ingredientes

6.2.1.1 En todo alimento que se que se venda como mezcla o combinación, se declarará el porcentaje de insumo, con respecto al peso o al volumen, como fuera apropiado, de cada ingrediente al momento de la elaboración del alimento (incluyendo los ingredientes compuestos⁴ o categorías de ingredientes⁵), cuando el ingrediente:

- (a) es enfatizado en la etiqueta como presente, por medio de palabras o imágenes o gráficos; o

³ En el momento de la elaboración de esta NTP la entidad competente es DIGESA.

⁴ Para los ingredientes compuestos, el porcentaje de insumo significa el porcentaje del ingrediente compuesto tomado como un todo.

⁵ Para los propósitos de la Declaración Cuantitativa de Ingredientes, "categoría de ingredientes" significa el término genérico que se refiere al nombre de clase de un ingrediente y/o cualquier término o términos comunes similares utilizados en referencia al nombre de un alimento.

(b) no figura en el nombre del alimento, es esencial para caracterizar al alimento, y los consumidores asumen su presencia en el alimento si la omisión de la declaración cuantitativa de ingredientes fuera a engañar o llevar a error a los consumidores.

Tales revelaciones no se requieren cuando:

(c) el ingrediente es utilizado en pequeñas cantidades para propósitos aromatizantes; o

(d) normas específicas aplicables a los productos estén en conflicto con los requisitos aquí descritos.

Respecto al apartado 6.2.1.1 (a):

(e) La referencia en el nombre del alimento, a un determinado ingrediente o categoría de ingredientes no implicará de por sí el requerir una declaración cuantitativa de ingredientes si es que:

La referencia no conducirá a error o engañará, o no es probable que cree una impresión errónea en el consumidor respecto a la naturaleza del alimento, porque la variación entre productos de la cantidad del ingrediente o ingredientes no es necesaria para caracterizar al alimento o distinguirlo de alimentos similares.

6.2.1.2 La información requerida en el apartado 6.2.1.1 será declarada en la etiqueta del producto como un porcentaje numérico.

El porcentaje de insumo, por peso o volumen como fuera apropiado, de cada ingrediente tal, se dará en la etiqueta muy cerca de las palabras o imágenes o gráficos que destacan el ingrediente particular, o al lado del nombre común del alimento, o adyacente a cada ingrediente apropiado enumerado en la lista de ingredientes como un porcentaje mínimo cuando el énfasis es sobre la presencia del ingrediente, y como un porcentaje máximo cuando el énfasis es sobre el bajo nivel del ingrediente.

Para alimentos que han perdido humedad luego de un tratamiento térmico u otro tratamiento, el porcentaje (con respecto al peso o al volumen) corresponderá a la cantidad del ingrediente o ingredientes usados, en relación al producto terminado.

Cuando la cantidad de un ingrediente o la cantidad total de todos los ingredientes expresados en la etiqueta exceden el 100 %, el porcentaje puede ser remplazado por el peso del ingrediente o ingredientes utilizados para preparar 100g de producto terminado.

6.2.2 Alimentos irradiados

6.2.2.1 La etiqueta de cualquier alimento que haya sido tratado con radiación ionizante deberá llevar una declaración escrita indicativa del tratamiento cerca del nombre del alimento. El uso del símbolo internacional indicativo de que el alimento ha sido irradiado, según se muestra abajo es facultativo, pero cuando se utilice deberá colocarse cerca del nombre del producto.



6.2.2.2 Cuando un producto irradiado se utilice como ingrediente en otro alimento, deberá declararse esta circunstancia en la lista de ingredientes.

6.2.2.3 Cuando un producto que consta de un solo ingrediente se prepara con materia prima irradiada, la etiqueta del producto deberá contener una declaración que indique el tratamiento.

6.3 Exenciones de los requisitos de etiquetado obligatorio

A menos que se trate de especias y de hierbas aromáticas, las unidades pequeñas en donde la superficie más amplia sea inferior a 10 cm² podrán quedar exentas de los requisitos estipulados en los apartados 6.1.2 y 6.1.6 al 6.1.9.

6.4 Etiquetado facultativo

6.4.1 En el etiquetado podrá presentarse cualquier información o representación gráfica así como materia escrita, impresa o gráfica, siempre que no esté en contradicción con los requisitos obligatorios de la presente NTP, incluidos los referentes a la declaración de propiedades y al engaño, establecidos en el capítulo 5.

6.4.2 Cuando se empleen designaciones de calidad, éstas deberán ser fácilmente comprensibles, y no deberán ser equívocas o engañosas en forma alguna.

6.5 Presentación de la información obligatoria

6.5.1 Generalidades

6.5.1.1 Las etiquetas que se pongan en los alimentos envasados deberán aplicarse de manera que no se separen del envase.

6.5.1.2 Los datos que deben aparecer en la etiqueta, en virtud de esta NTP o de cualquier otra norma aplicable deberá indicarse con caracteres claros, bien visibles, indelebles y fáciles de leer por el consumidor en circunstancias normales de compra y uso.

6.5.1.3 Cuando el envase esté cubierto por una envoltura, en ésta deberá figurar toda la información necesaria, o la etiqueta aplicada al envase deberá poder leerse fácilmente a través de la envoltura exterior o no deberá estar oscurecida por ésta.

6.5.1.4 El nombre y contenido neto del alimento deberá aparecer en un lugar destacado y en el mismo campo de visión.

6.5.2 Idioma

6.5.2.1 Cuando el idioma en que está redactada la etiqueta original no sea aceptable para el consumidor a que se destina, en vez de poner una nueva etiqueta podrá emplearse una etiqueta complementaria, que contenga la información obligatoria en el idioma español.

6.5.2.2 Cuando se aplique una nueva etiqueta o una etiqueta complementaria, la información obligatoria que se facilite deberá reflejar totalmente y con exactitud la información que figura en la etiqueta original.

7. ANTECEDENTES

- | | | |
|-----|----------------------------------|---|
| 7.1 | CODEX STAN 1-1985
Emd. 6:2008 | Norma General para el etiquetado de
los alimentos preenvasados |
| 7.2 | NTP 209.038:2003 | ALIMENTOS ENVASADOS.
Rotulado |

Prohibida su reproducción total o parcial

Anexo N° 15: Tabla Número más Probable

Número Más Probable

(NMP / 100 mL)

Número de tubos que dan reacción positiva en las series de tres tubos inoculados con:			NMP/100mL
10 mL	1 mL	0,1 mL	
0	0	1	3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	23
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100

GLOSARIO DE TÉRMINOS:

1. **ALZHEIMER:** Es una enfermedad neurológica progresiva e irreversible que afecta al cerebro produciendo la muerte de las neuronas. Es la causa más frecuente de todas las demencias, produciendo un deterioro de todas las funciones cognitivas.
2. **ANTIOXIDANTE:** Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación (pérdida de uno o más electrones) de otras moléculas generalmente sustratos biológicos como lípidos, proteínas ó ácidos nucleicos. La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante.
La oxidación de tales sustratos podrá ser iniciada por dos tipos de especies reactivas: los radicales libres, y aquellas especies que sin ser radicales libres, son suficientemente reactivas para inducir la oxidación de sustratos como los mencionados. Estos radicales libres comienzan reacciones en cadena que dañan las células.
3. **ARTERIOESCLEROSIS:** Alteración vascular que se caracteriza por el endurecimiento, el aumento del grosor y la pérdida de elasticidad de las paredes arteriales.
4. **BIOMOLÉCULA:** Una biomolécula es un compuesto químico que se encuentra en los organismos vivos. Están formadas por sustancias químicas compuestas principalmente por carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, sulfuro y fósforo. Las biomoléculas son el fundamento de la vida y cumplen funciones imprescindibles para los organismos vivos.
5. **CÁNCER:** El cáncer es un proceso de crecimiento y diseminación incontrolados de células. Puede aparecer prácticamente en cualquier lugar del cuerpo. El tumor suele invadir el tejido circundante y puede provocar metástasis en puntos distantes del organismo. Muchos tipos de cáncer se podrían prevenir evitando la exposición a factores de riesgo comunes como el humo de tabaco. Además, un porcentaje importante de cánceres pueden curarse mediante cirugía,

radioterapia o quimioterapia, especialmente si se detectan en una fase temprana.

6. DIGESA: La Dirección General de Salud Ambiental e Inocuidad Alimentaria - DIGESA es el órgano de línea dependiente del Viceministerio de Salud Pública, constituye la Autoridad Nacional en Salud Ambiental e Inocuidad Alimentaria, responsable en el aspecto técnico, normativo, vigilancia, supervigilancia de los factores de riesgos físicos, químicos y biológicos externos a la persona y fiscalización en materia de salud ambiental.

Tiene competencia para otorgar, reconocer derechos, certificaciones, emitir opiniones técnicas, autorizaciones, permisos y registros en el marco de sus competencias, ejerce las funciones de autoridad nacional de salud ambiental e inocuidad alimentaria. Constituye la última instancia administrativa en materia de su competencia.

7. DIABETES: Enfermedad crónica e irreversible del metabolismo en la que se produce un exceso de glucosa o azúcar en la sangre y en la orina; es debida a una disminución de la secreción de la hormona insulina o a una deficiencia de su acción.

8. ESPECTOFOTOMETRO: Un espectrofotómetro es un instrumento usado en el análisis químico que sirve para medir, en función de la longitud de onda, la relación entre valores de una misma magnitud fotométrica relativos a dos haces de radiaciones y la concentración o reacciones químicas que se miden en una muestra.

9. ENFERMEDAD DEGENERATIVA: Una enfermedad degenerativa es una afección generalmente crónica mediante un proceso continuo basado en cambios degenerativos en las células, en la cual la función o la estructura de los tejidos u órganos afectados empeoran con el transcurso del tiempo. La misma se puede manifestar por procesos normales de desgaste del cuerpo, elecciones relacionadas con el estilo de vida tales como ejercicio o hábitos alimenticios. A menudo las enfermedades degenerativas son contrapuestas con las enfermedades infecciosas.

Se originan por la alteración anatómica y funcional de los tejidos de cualquier órgano, aparato o sistema del organismo.

10. FLAVONOIDES: Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos. Están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras y en diversas bebidas y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana.

11. METABOLITOS SECUNDARIOS: Se llaman metabolitos secundarios de las plantas a los compuestos químicos sintetizados por las plantas que cumplen funciones no esenciales en ellas, de forma que su ausencia no es letal para el organismo, al contrario que los metabolitos primarios. Los metabolitos secundarios intervienen en las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente.

Son aquellos compuestos orgánicos sintetizados por el organismo que no tienen un rol directo en el crecimiento o reproducción del mismo. A diferencia de lo que sucede con los metabolitos primarios, la ausencia de algún metabolito secundario no le impide la supervivencia, si bien se verá afectado por ella, a veces gravemente.

12. MOSTO DE VINO: Está formado por la piel, la pulpa y las semillas de la vid, luego del proceso de fermentación.

Es en definitiva, la uva procesada durante el proceso de elaboración del vino, pero no es desechada, sino todo lo contrario. Incluso, uno de los requerimientos para ser un buen mosto es que mantenga el olor a la fruta y sea de un color vivo, por lo que no debe tener aspecto de "desecho".

Hay tres clasificaciones para el mosto: simple, concentrado y sulfitado.

El mosto simple es el líquido que se obtiene de la molienda o prensado de la uva fresca y no ha comenzado la fermentación ni se le han agregado conservantes.

El mosto concentrado es el resultado de la deshidratación parcial del mosto simple.

El mosto sulfitado es el mosto simple conservado gracias a la adición de metabisulfito de potasio o anhídrido sulfuroso.

13. **PARKINSON:** Enfermedad crónica y degenerativa del sistema nervioso que se caracteriza por falta de coordinación y rigidez muscular y temblores.
14. **PEACHIMETRO:** El pH-metro es un sensor utilizado en el método electroquímico para medir el pH de una disolución. La determinación de pH consiste en medir el potencial que se desarrolla a través de una fina membrana de vidrio que separa dos soluciones con diferente concentración de protones.
15. **POLIFENOLES:** Grupo de pigmentos vegetales con poder antioxidante que tienen más de un grupo fenol en cada molécula. Están en frutas, verduras y hortalizas. También en el té verde, las legumbres y los germinados. Los polifenoles más estudiados son los taninos y los flavonoides.
16. **QUERCETINA:** La quercetina es un antioxidante con propiedades medicinales para prevenir el envejecimiento y el deterioro de los sistemas celulares. Es un nutriente esencial y es necesario para mantener la salud. Son muchos sus beneficios y pocos los efectos secundarios que puedes encontrar si lo tomas como suplemento.
17. **RADICALES LIBRES:** Los radicales libres son sustancias químicas muy reactivas que introducen oxígeno en las células, produciendo la oxidación de sus partes, alteraciones en el ADN, y que provocan cambios que aceleran el envejecimiento del cuerpo. Esto es debido a que el oxígeno, aunque imprescindible para la vida, es también un elemento químico muy reactivo. El propio cuerpo genera radicales para su propio uso (controlar el tono muscular, eliminar bacterias, regular la actividad de órganos y vasos, etc.). Al mismo tiempo genera antioxidantes para eliminar los radicales libres que sobran. Desde un punto de vista químico, un radical libre es cualesquier especie (átomo, molécula o ión) que contenga a lo menos un electrón desapareado en su orbital más externo, y que sea a su vez capaz de existir en forma independiente (de ahí el término libre).
18. **REFRACTÓMETRO:** Un refractómetro es un aparato destinado a medir el índice de refracción de un medio material.¹ Se basan en la medida del llamado

ángulo crítico o ángulo límite o en la medida del desplazamiento de una imagen.

Se denomina ángulo crítico, o ángulo límite, al ángulo de refracción en un determinado medio material cuando el ángulo de incidencia de la radiación es de 90° respecto de la recta perpendicular a la interfaz de separación entre un medio material de índice de refracción conocido, generalmente el aire, y el medio material de índice de refracción desconocido.

19. RESVERATROL: El Resveratrol es un antioxidante que se encuentra en varias plantas y especialmente en la piel de las uvas rojas, las grosellas, las moras y los cacahuetes. Se elaboran cápsulas en diferentes dosis, como sustancia única o juntamente con otros componentes, también se elaboran cosméticos con este ingrediente.

20. ROS: Las especies reactivas derivadas del oxígeno (ROS, del inglés Reactive Oxygen Species), es un término colectivo, ampliamente empleado, que comprende todas aquellas especies reactivas que, siendo o no radicales libres, centran su reactividad en un átomo de oxígeno. No obstante, a menudo, bajo la denominación ROS se incluyen otras especies químicas cuya reactividad se centra o deriva en átomos distintos al de oxígeno.

21. QUELANTES: Un quelante, o secuestrante, o antagonista de metales pesados, es una sustancia que forma complejos con iones de metales pesados. A estos complejos se los conoce como quelatos, palabra que proviene de la palabra griega chele que significa "garra".

Una de las aplicaciones de los quelantes es evitar la toxicidad de los metales pesados para los seres vivos.