

Estudio de la estabilidad del colorante extraído a partir de flores de zapatico de la reina (*Clitoria ternatea*) en una bebida saborizada

Study of the stability of the dye extracted from queen's slipper flowers (*Clitoria ternatea*) in a flavored beverage.

Estudo da estabilidade do corante extraído das flores de (*Clitoria ternatea*) numa bebida aromatizada.

Ayala Vera, Melany Madeline
Universidad Técnica de Cotopaxi

melany.ayala3909@utc.edu.ec

<https://orcid.org/0009-0006-0248-8937>



Lascano Lascano, Jessenia María
Universidad Técnica de Cotopaxi

jessenia.lascano3765@utc.edu.ec

<https://orcid.org/0009-0002-2620-3108>



Gavilánez Buñay, Tatiana Carolina
Universidad Técnica de Cotopaxi

tatiana.gavilanez@utc.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0002-7422-3122>



Casco Toapanta, Marjorie Gissela
Universidad Técnica de Cotopaxi

marjorie.casco7525@utc.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0002-9868-9023>



 DOI / URL: <https://doi.org/10.55813/gaea/ccri/v5/n2/596>

Como citar:

Ayala Vera, M. M., Lascano Lascano, J. M., Gavilánez Buñay, T. C., & Casco Toapanta, M. G. (2024). Estudio de la estabilidad del colorante extraído a partir de flores de zapatico de la reina (*Clitoria ternatea*) en una bebida saborizada. *Código Científico Revista De Investigación*, 5(2), 1516–1536. <https://doi.org/10.55813/gaea/ccri/v5/n2/596>.

Recibido: 30/11/2024

Aceptado: 19/12/2024

Publicado: 31/12/2024

Resumen

Esta investigación fue realizada con el objetivo de aprovechar la flor de Clitoria (*Clitoria ternatea*) y evaluar la resistencia del colorante en la preparación de una bebida saborizada, mediante espectrofotometría. Los análisis se llevaron a cabo según las NTE-INE para determinar pH, °Brix, concentración de sales, sólidos totales y conductividad. Se aplicó un diseño factorial (AxB), con seis tratamientos considerando dos condiciones de luz (oscuridad y luz LED) y tres temperaturas (5 °C, 28 °C y 35 °C), todos los tratamientos con tres repeticiones. La medición de las variables fue tomada durante 15 días y se estableció las diferencias estadísticas entre las medias de los tratamientos mediante la prueba de Tukey ($p > 0,05$). Los resultados indicaron que el tratamiento más estable fue el almacenado en oscuridad a 5°C, con una variación mínima en los parámetros evaluados. La metodología incluyó dos métodos de extracción (agitación y maceración), determinándose que la agitación tuvo mayor eficiencia, logrando una concentración de antocianinas de 16,53 mg/L. Este estudio concluyó que las condiciones de almacenamiento (luz LED y oscuridad) y temperatura influyen significativamente en la estabilidad del colorante natural, destacando la viabilidad de su uso en bebidas saborizadas.

Palabras clave: Absorbancia, antocianinas, *Clitoria ternatea*, estabilidad, NTE-INE

Abstract

This research was carried out with the objective of taking advantage of the Clitoria flower (*Clitoria ternatea*) and evaluating the resistance of the colorant in the preparation of a flavored beverage, by means of spectrophotometry. The analyses were carried out according to NTE-INE to determine pH, °Brix, salt concentration, total solids and conductivity. A factorial design (AxB) was applied, with six treatments considering two light conditions (dark and LED light) and three temperatures (5 °C, 28 °C and 35 °C), all treatments with three replicates. The measurement of the variables was taken during 15 days and statistical differences between the means of the treatments were established using Tukey's test ($p > 0.05$). The results indicated that the most stable treatment was the one stored in darkness at 5°C, with minimal variation in the parameters evaluated. The methodology included two extraction methods (agitation and maceration), determining that agitation had greater efficiency, achieving an anthocyanin concentration of 16.53 mg/L. This study concluded that storage conditions (LED light and darkness) and temperature significantly influence the stability of the natural colorant, highlighting the feasibility of its use in flavored beverages.

Keywords: Absorbance, anthocyanins, *Clitoria ternatea*, stability, NTE-INE.

Resumo

Esta pesquisa foi realizada com o objetivo de utilizar a flor de Clitoria (*Clitoria ternatea*) e avaliar a resistência do corante no preparo de uma bebida aromatizada, por meio de espectrofotometria. As análises foram realizadas de acordo com a NTE-INE para determinação do pH, °Brix, concentração de sais, sólidos totais e condutividade. Foi aplicado um delineamento fatorial (AxB), com seis tratamentos considerando duas condições de luz (escuro e luz LED) e três temperaturas (5 °C, 28 °C e 35 °C), todos os tratamentos com três repetições. A medição das variáveis foi efetuada durante 15 dias e as diferenças estatísticas entre as médias dos tratamentos foram estabelecidas através do teste de Tukey ($p > 0,05$). Os resultados indicaram que o tratamento mais estável foi o que foi armazenado no escuro a 5°C,

com uma variação mínima nos parâmetros avaliados. A metodologia incluiu dois métodos de extração (agitação e maceração), tendo sido determinado que a agitação teve uma maior eficiência, alcançando uma concentração de antocianinas de 16,53 mg/L. Este estudo concluiu que as condições de armazenamento (luz LED e escuridão) e a temperatura influenciam significativamente a estabilidade do corante natural, evidenciando a viabilidade da sua utilização em bebidas aromatizadas.

Palavras-chave: Absorvância, antocianinas, *Clitoria ternatea*, estabilidade, NTE-INE.

Introducción

La *Clitoria Ternatea* (CT), también llamado frijol mariposa o guisante de mariposa, es una especie perenne de la familia *Fabaceae*, originariamente de Asia, pero ahora distribuida en diversas regiones del mundo. Sus flores de color azul miden aproximadamente de 4 cm de longitud y 3 cm de anchura, y la planta es fácil de cultivar, aunque tiene un ciclo de vida relativamente corto. Es una planta tropical que prospera en temperaturas de entre 19 y 28 °C y requiere niveles moderados de agua (700-1500) mm anuales. Esta especie puede sobrevivir entre 7 y 8 meses, incluso en condiciones de sequía (Weerasinghe y Perera 2022). Aunque se cultiva a pleno sol, tiene una floración abundante y no necesita suelos altamente fértiles, adaptándose bien a suelos de fertilidad moderado, especialmente sin son arcillosos. La planta es tolerante a períodos de sequía, aunque requiere riego regular para un crecimiento óptimo (Oguis, 2019).

CT es rica en compuestos de antocianina, los cuales son responsables del color azul intenso de su flor, por lo que se emplea como colorante en la industria alimentaria. Sin embargo, la antocianina es uno de los colorantes alimentarios más inestables en la naturaleza, y su estabilidad se ve afectado por condiciones como la temperatura, el pH y otras actividades enzimáticas Vidana (2022), además, no solo contiene antocianina como compuestos antioxidantes, sino también otros potentes antioxidantes como flavonoides, ácidos fenólicos, procianidina y glucósidos de flavonol, teniendo varias aplicaciones en el área medicinal y beneficios para la salud, como ayudar en la digestión, mejorar la vista, bajar la presión arterial

y dar luminosidad a la piel (Jamil, 2018). Además de su popularidad por lo antioxidantes, es rica en compuestos bioactivos como taninos, resinas, esteroides, saponinas, triterpenoides y xantenos (Manjula, 2013). Jamil (2018) detalla los compuestos bioactivos presentes en raíces, tallos, hojas y flores CT, con potencial como agentes antimicrobianos.

El objetivo principal de esta investigación es evaluar la estabilidad del colorante extraído de flores de CT en una bebida saborizada a través de técnicas espectrofotométricas y experimentales durante el tiempo de estudio.

Metodología

Obtención de material vegetal

Se llevó a cabo la recolección de las flores CT provenientes del jardín de pastos y forrajes perteneciente al proyecto FIASA-CA-2023-013 (Fondo de Investigación para la Agrobiodiversidad, Semillas y Agricultura Sustentables en Ecuador) en el centro experimental Sacha Wiwa perteneciente a la Universidad Técnica de Cotopaxi, extensión La Maná, localizado en el sector Guasaganda, Ecuador, a una altura de 200 a 1150 msnm con temperaturas de 23°C a una superficie de 398 km según GAD Guasaganda (2023). Para este experimento se recolectaron flores en buen estado sin plagas, enfermedades, ni lesiones las cuales fueron transportadas en fundas herméticamente selladas.

Secado del material vegetal

Se realizó según el método sugerido por Jurado (2020). Como material vegetal se utilizaron flores de CT las cuáles se almacenaron por 12 horas en el cuarto frío del laboratorio de germoplasma a 4°C, posteriormente secadas a 42°C. El ciclo de secado se realizó en una estufa marca BIOBASE BJPX-H30.

Extracción del colorante por agitación y maceración

La metodología que se empleó para el proceso de elaboración del extracto de las flores de CT consistió en someter el polvo extraído a dos sistemas tradicionales de extracción sólido-líquido, la primera es la técnica por agitación y la segunda por maceración, para su posterior cuantificación por espectrofotometría, teniendo en cuenta la precisión de los métodos (Flores, 2017).

En cuanto a la extracción por agitación, se utilizó el método de Jurado (2020). En un vaso de precipitación se preparó una mezcla de 1 miligramo (mg) de material vegetal con 10 mL de una solución etanol: agua (60:40), manteniendo una relación 1/10 entre el material vegetal y el disolvente. Luego, se sometió a agitación constante a 300 rpm durante 40 minutos a 30°C. Finalmente, se filtró el colorante para eliminar los residuos de materia vegetal remanente.

Para el método de maceración se aplicó según el método de Quinatoa (2022). En un vaso de precipitado, se mezclaron 1 mg de muestra de material vegetal con 10 mL de una solución de una solución etanol: agua en una proporción de 60:40, con una relación de 1/10 entre el material vegetal y el disolvente. El material fue filtrado para eliminar residuos remanentes.

La determinación del método de extracción más eficiente se efectuó mediante un espectrofotómetro UV/VIS marca BIOBASE BK-S360, de acuerdo con la metodología de Ozaeta (2015). Se realizó el análisis en un grado espectral de longitud de onda entre 400 – 650 nm, considerando la absorbancia máxima del colorante. Como se muestra en la figura 1.

Preparación de la bebida saborizada

Con el fin de evaluar la estabilidad del colorante obtenido se preparó una bebida saborizada de acuerdo con la propuesta de Jiménez (2022) y cumpliendo con los requisitos por

la norma NTE INEN 2304, (2017) con relación al pH, lo que le dio lugar al siguiente procedimiento.

Se calentó 1 litro de agua hasta alcanzar una temperatura de 80 °C en condiciones controladas por un lapso de 30 minutos. Posterior a esto según la formulación de la tabla 1 se elaboró el jarabe añadiendo azúcar, ácido cítrico y un agente saborizante al agua calentada previamente para asegurar una disolución homogénea de los componentes. El agua se enfrió hasta alcanzar una temperatura de 20 °C para agregar el colorante que se obtuvo. Finalmente, se incorporó el preservante según el procedimiento descrito por Marcano (2018). Se vertió el compuesto obtenido en un frasco de vidrio de 60 ml previamente sometida a esterilización.

En cuanto a la composición de los ingredientes utilizados en la formulación para la bebida saborizada en relación a 1 litro de agua, se usó principalmente agua (88,54%), luego se le añadió azúcar (11,00%), saborizante (0,33%), ácido cítrico (0,10%), colorante (0,01%) y preservante (0,02%).

Tratamientos

La bebida saborizada elaborada a partir de la flor CT fue almacenada bajo dos condiciones de exposición (oscuridad y luz LED) durante un período de 15 días para cada condición, y se realizó a tres temperaturas controladas (5°C, 28°C y 35°C). Se tomaron 5ml de muestra de cada grupo experimental para la medición de las variables correspondientes (Silva, 2023a).

Medición de los parámetros

Después de haber formulado los diferentes tratamientos se realizó las mediciones por 15 días de los parámetros físico-químicos, mientras que los microbiológicos (aerobios mesófilos) el conteo se realizó al final. A continuación, se detallan los parámetros:

Medición de iones de hidrógeno (pH): Se evaluaron según la norma establecida para los iones de hidrógeno. Para ello, se colocarán 10 ml de una bebida saborizada que contiene el

colorante, en un beaker y se introdujo los electrodos en la muestra para su análisis. Se registró el valor indicado por el medidor y se realizó una medición por duplicado (NTE INEN 2304, 2017).

Análisis de sólidos solubles (°Brix): Se procedió según lo establecido por la norma, con modificaciones, se colocó 10 ml de la bebida saborizada en un vaso de precipitado dejando caer 3 gotas en un refractómetro opti refractometer a 20°C (NTE INEN 1083:1984, 2013a).

Determinación de conductimetría: Se evaluaron según la norma establecida para conductimetría. Para ello, se colocaron 10 ml de bebida saborizada que contenía el colorante, se colocó en un vaso de precipitación y se insertó los electrodos en la muestra. Se registró el valor indicado por el medidor y se realizó la medición por duplicado (NTE INEN 2304, 2017).

Sólidos totales y disueltos (TDS): Se analizaron las sales en la bebida saborizada de acuerdo con la norma establecida. Para ello, se colocaron 10 ml de la bebida en un recipiente de precipitación, y se insertó el electrodo del dispositivo para medir la muestra ya que debe mantener una numeración mínima requerido de sólidos totales según lo especificado para asegurar la consistencia y calidad del producto (NTE INEN 382, 2013).

Medición concentración de sales: Se evaluaron las sales presentes en la bebida saborizada de la flor de CT según lo establecido en la norma. Para ello, se colocaron 10 ml de la bebida en un vaso de reacción. Posteriormente, se realizó el análisis químico correspondiente, registrando los resultados, y se repitió la medición por duplicado para garantizar la precisión de la bebida (NTE INEN 2200, 2017).

Análisis de aerobios: El análisis de aerobios mesófilos, se realizó conforme a la NTE INEN 1529-5 (2012) junto con los cálculos correspondientes mediante la ecuación establecida, respectivamente. Se empleó en medio de cultivo Plate Count Agar (PCA), se incubó las placas a 35 °C durante 2 días, el conteo se realizó en un contador de colonias marca Boeco Germany.

Los resultados obtenidos se expresaron en número estimado sobre centímetros cúbicos (NE/cm³).

$$N_E = \frac{\sum c}{V * n * d}$$

Ecuación 1. Fórmula para recuento de mesófilos aerobios

En el cual:

∑c: suma de las colonias identificadas en las placas

V: volumen inoculado en cada placa

n: número de placas seleccionadas

d: factor de dilución de la suspensión inicial o de la primera dilución inoculada o seleccionada

Cuantificación de antocianinas por espectrofotometría: Se colocó la muestra de la bebida en la celda de cuarzo de 1 cm y se realizó el análisis en un intervalo de longitud de onda de 600 nm por triplicado (NTE INEN 1727, 2011)

El contenido de antocianinas se calculó utilizando la ecuación 2 propuesta por Martínez (2011), usando el extracto líquido y filtrado de los dos métodos (agitación y ultrasonido) y registrando la máxima absorbancia alcanzada.

$$C = \frac{A * PM * FD * 1000}{\epsilon(1)}$$

Ecuación 2. Contenido de antocianinas

En el cual:

C: Contenido de antocianinas en mg/L.

PM: Peso molecular de la 3,5-glucósido de cianidina (g/L)

FD: Factor de dilución (1/10)

A= Absorbancia de la muestra 600 nm

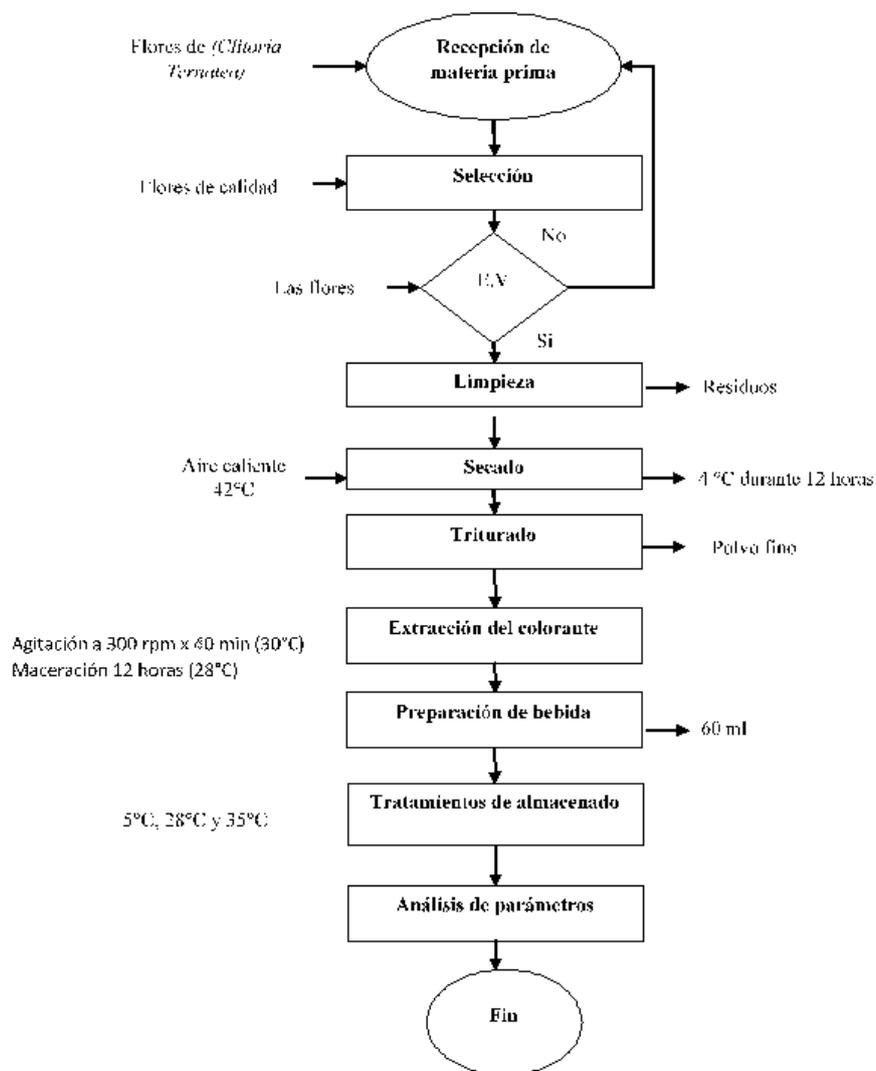
ε: Coeficiente de extinción molar de la cianidina (26.900 L cm⁻¹ mg⁻¹).

Diseño de estudio experimental

En el este proyecto investigativo se utilizó un diseño completamente aleatorio (DCA) con un esquema factorial AxB (3 x 2) donde los factores estudiados fueron (factor A) y las condiciones de almacenamiento (factor B) tanto en luz led y oscuridad. Todos los datos fueron procesados estadísticamente en el programa Statgraphics Centurium 19, Versión 19.6.04.

Toda la metodología es resumida en el siguiente diagrama de flujo.

Figura 1
Diagrama de flujo de la elaboración de la bebida



Nota: Autores (2024)

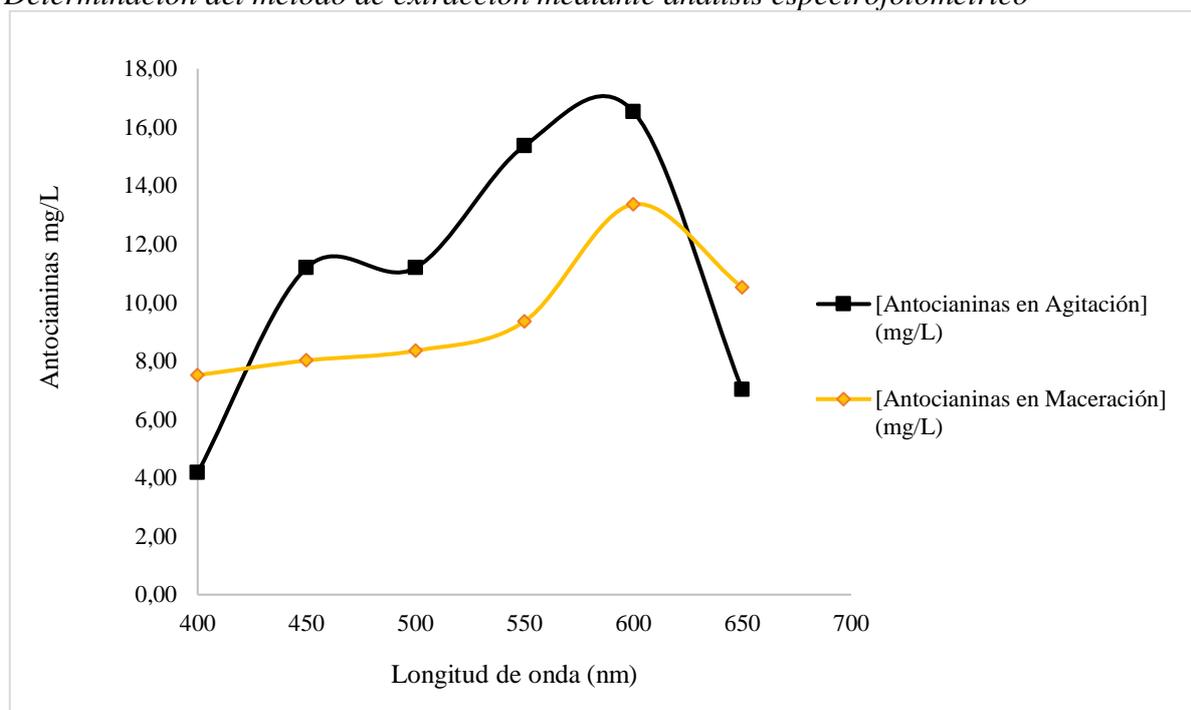
Resultados

1.1. Identificación del mejor método de extracción mediante espectrofotometría

Se comparó los dos métodos de extracción del colorante como se puede observar en la figura 2 en la cual se demuestra que los métodos extractivos de agitación y maceración tuvieron la máxima absorbancia en una longitud de onda de 600 nm con una diferencia de 20% más en la extracción, por ende, se eligió al método de agitación como método de extracción de la presente investigación.

Figura 2

Determinación del método de extracción mediante análisis espectrofotométrico



Nota: Concentración de antocianinas en mg/L medidas a diferentes longitudes de onda 400-650 nm expresadas en unidades de concentración utilizando la ecuación 2.

Además, en la tabla 1 se representa la absorbancia máxima del extracto que se obtuvo con ambas técnicas siendo de rendimiento máximo (aprox. 20% más) en la extracción por agitación.

Tabla 1*Contenido de antocianinas en los extractos obtenidos por los dos métodos*

Proceso de extracción	Longitud de onda máxima (nm)	Absorbancia máxima	Contenido de antocianinas (mg/L)
Agitación	600	0,099	16,532
Maceración	600	0,080	13,359

Nota: Comparación de las dos técnicas extractivas en función de absorbancia y concentración.

1.2. Análisis de la estabilidad del colorante

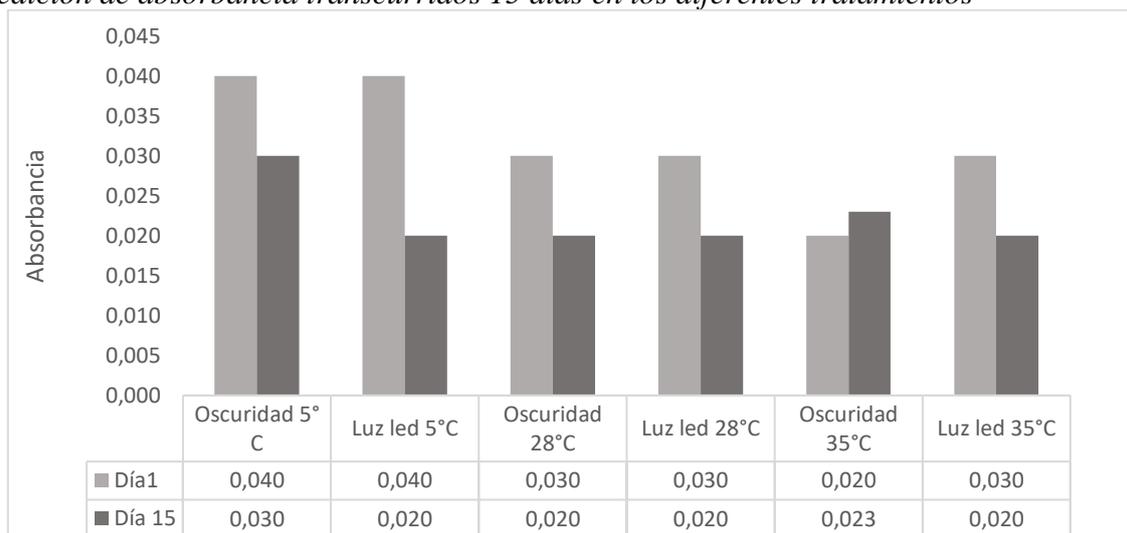
Al estudiar la estabilidad del colorante se elaboró una bebida saborizada (Tabla 1). La bebida se almacenó a tres condiciones de temperatura (5°C, 28°C y 35°C) y bajo dos condiciones de luz (oscuridad y luz LED).

La absorbancia es un parámetro que se utiliza para la medición de la estabilidad de colorantes naturales, por lo que en la figura 3 se muestra los resultados obtenidos luego de los 15 días de almacenamiento a diferentes condiciones.

El estudio de absorbancia espectrofotométrica en la bebida saborizada que fue expuesta a diferentes condiciones de almacenamiento y temperatura evidenció el comportamiento del colorante dónde los tratamientos tuvieron una disminución de 0.010 en su absorbancia a lo largo de los 15 días, a excepción del tratamiento de oscuridad a 35°C que tuvo aumento de 0,020 a 0,023 mg/L en el día 1 y 15. Sin embargo, el tratamiento que menos variación en absorbancia fue en condiciones de oscuridad a 5 °C de 0,040 a 0,030 mg/L en el día 1 y 15 respectivamente.

Figura 3

Medición de absorbancia transcurridos 15 días en los diferentes tratamientos



Nota: Autores (2024)

1.3. Medición de parámetros fisicoquímicos

Concentración de sales

Se evaluó el contenido de sales en la bebida saborizada durante un período de almacenamiento de 15 (Tabla 3) que mediante la prueba de Tukey se obtuvo un coeficiente de variación de 15,02 a 3,15 para el día 1 y 15 respectivamente. Dónde se puede visualizar de acuerdo con el análisis de varianza ($p < 0.05$) que para los tratamientos a 5°C (oscuridad y luz LED), 28°C (oscuridad y luz LED) y 35°C (oscuridad) no hubo variación significativa, a excepción del tratamiento a luz LED a 35°C el cual para el día 1 presentó un valor de 97,20 mg/L y para el día 15 bajó a 92,73 mg/L.

Conductividad (µS)

En la medición de conductividad la prueba de Tukey se obtuvo un coeficiente de variación entre 11,64 a 2,19 desde el día 1 hasta el día 15. Conforme el estudio de varianza (ANOVA) se encontró desigualdades significativas para la condición de almacenamiento en luz LED a 35°C cuyo valor para el día 1 fue de 212,67 a 424,33 µS para el día 15, seguido del tratamiento a oscuridad a 35°C que tuvo un valor de 140,47 µS en el día 1 y 174,17 µS en el

día 15. Sin embargo, para los tratamientos en condiciones de oscuridad y luz LED a diferentes temperaturas (5°C, 28°C) no se presentó mayor diferencia.

Sólidos totales (TDS)

Durante los 15 días de almacenamiento, se evaluó los sólidos disueltos totales (TDS) de la bebida (Tabla 2), la prueba de Tukey mostró un coeficiente de variación entre 15,35 y 3,22. Los sólidos totales disueltos son pequeñas partículas que se disuelven en agua, esto puede atribuir a que en la siguiente investigación de acuerdo con el estudio estadístico de varianza (ANOVA) se encontraron distinciones en los tratamientos evaluados ($p < 0.05$) siendo los valores más altos registrados en la condición de luz LED a 35°C el cual obtuvo 135,67 mg/L para el día 1 y 243,67 mg/L para el día 15, a diferencia de los otros tratamientos en condiciones de oscuridad y luz LED a temperaturas de 5°C, 28°C y 35°C en oscuridad, mostraron valores más bajos y estables.

Iones de hidrogeno (pH)

Se llevó a cabo la medición del pH de la bebida saborizada durante un período de 15 días, evaluando diferentes condiciones de almacenamiento (Tabla 2) según la prueba de Tukey, el coeficiente de variación fue de 0,93 y 0,90 en los días 1 y 15 respectivamente. En las condiciones iniciales y finales, el pH no demostró diferencias relevantes ($p > 0.05$), en los parámetros de almacenamiento (oscuridad y luz LED), manteniéndose estable entre 3,20 a 4,91.

Análisis de sólidos solubles (°Brix)

El análisis de los sólidos solubles se llevó a cabo utilizando un opti refractometer a lo largo de los 15 días de almacenamiento. Los °Brix representan la cantidad de azúcares que se le disueltos en la solución. La Tabla 2 presenta los resultados del análisis de Tukey con un coeficiente de varianza entre 0,90 y 0,83 para los días 1 y 15. Los rangos de sólidos solubles presentes en la bebida para ambos tratamientos (oscuridad y luz LED) a temperaturas de 5°C,

28°C y 35°C no registraron diferencias significativas ($p>0.05$) debido a que oscilaron entre 13,37 a 14,13 °Brix, valores que cumplen con lo requerido por la norma inen.

Mediante la tabla 2 se reflejan los resultados en base a la prueba de Tukey de los parámetros que se midieron durante el lapso de los 15 días de almacenamiento de la bebida para evaluar su estabilidad.

Tabla 2

Medición de parámetros durante 15 bajo diferentes condiciones de almacenamiento

Tratamientos	Sales (mg/L)		Conductividad (µS)		TDS (mg/L)		pH		°Brix (%)	
	Día 1	Día 15	Día 1	Día 15	Día 1	Día 15	Día 1	Día 15	Día 1	Día 15
Oscuridad 5° C	66,00 ^b	74,60 ^b	127,80 ^b	164,97 ^b	103,0 ^{bc}	92,23 ^b	3,22 ^b	3,19 ^a	13,37 ^a	13,87 ^{cd}
Luz led 5°C	30,47 ^a	41,77 ^a	72,67 ^a	78,60 ^a	44,53 ^a	56,27 ^a	4,60 ^c	4,91 ^b	13,77 ^b	13,50 ^{ab}
Oscuridad 28°C	72,87 ^{bc}	75,37 ^b	126,23 ^b	175,73 ^b	99,63 ^{bc}	92,77 ^b	3,20 ^b	3,19 ^a	13,27 ^a	14,13 ^d
Luz led 28°C	30,93 ^a	44,20 ^a	71,10 ^a	76,30 ^a	41,27 ^a	57,90 ^a	4,67 ^c	4,89 ^b	13,70 ^b	13,33 ^a
Oscuridad 35°C	59,83 ^b	76,47 ^b	140,47 ^b	174,17 ^b	93,43 ^b	91,43 ^b	3,22 ^b	3,20 ^a	13,17 ^a	13,77 ^{bc}
Luz led 35°C	97,20 ^c	92,73 ^c	212,67 ^c	424,33 ^c	135,67 ^c	243,67 ^c	3,10 ^a	3,16 ^a	13,27 ^a	13,27 ^a
CV	15,02	3,15	11,64	2,19	15,35	3,22	0,93	0,90	0,90	0,83

Nota: CV= Coeficiente de variación; TDS= Sólidos disueltos totales

1.4. Las medias con una letra común no muestran diferencias ($p>0.05$)

Cuantificación de aerobios mesófilos

El recuento microbiológico realizado a los 15 días indicó el contenido de mesófilos aerobios (Tabla 3), el cual se realizó con la fórmula establecida (ecuación 1), con un número estimado/cm³ de 1 para el tratamiento a oscuridad en 5°C y 3 NE/cm³ a 35°C también en condiciones de oscuridad, esto indica que el crecimiento microbiano fue mínimo dando a entender que las condiciones de almacenamiento y los aditivos usados fueron efectivos.

Tabla 3

Cuantificación de aerobios mesófilos en la bebida saborizada a los 15 días.

Tratamiento	NE (Número estimado/cm ³)
Oscuridad 5 °C	1
Luz led 5 °C	0
Oscuridad 28 °C	0
Luz led 28 °C	0
Oscuridad 35 °C	3
Luz led 35 °C	0

Nota: Autores (2024)

Discusión

Díaz (2017) menciona que el mediante espectrofotometría UV, se puede determinar la concentración de un compuesto en solución a través de la medición de la absorbancia en este caso fue el método seleccionado para la cuantificación de la concentración de antocianinas.

Al comparar los dos métodos de extracción utilizados en el presente estudio (maceración y agitación) como se muestra en la tabla 1, se encuentra que la mayor concentración de antocianinas es a 600nm con el método de agitación (16,53mg/L), a diferencia del método de maceración que fue de (13,36mg/L). Villacís (2021) concuerda con este resultado debido a que, mediante la técnica de agitación, presentó el mayor contenido de antocianinas que es de 87,5 mg. Esta diferencia se debe al periodo de extracción y la temperatura aplicada durante el proceso de extracción que fue de 60°C por 15 minutos, a diferencia de 30°C por 40 minutos condiciones del presente estudio.

En la medición de la absorbancia (Figura 3), el tratamiento más estable es a oscuridad y 5°C debido a que estos factores presentan menor variación en el transcurso de los 15 días de experimentación a diferencia de los tratamientos con luz LED y temperaturas altas como 35°C, que generan un mayor deterioro en la bebida medida en función de su absorbancia y la misma que es transformada a unidades de concentración de antocianina, esto concuerda con Silva (2023b) quién en su investigación señala que las antocianinas son sensibles a temperaturas elevadas lo que provoca una ruptura en su enlace glucósido y la formación de estructuras hidroxiladas, reduciendo la resistencia del colorante, además la exposición en luz aumenta la degradación de los pigmentos.

En relación a la concentración de sales de la bebida en condiciones de almacenamiento de 35°C a luz LED se obtiene una disminución significativa de 97,20 a 92,73 mg/L durante los 15 días, a diferencia de los demás tratamientos. Mejía (2023a) afirma que factores como sales es crítico para la calidad del producto y pueden variar dependiendo del tratamiento aplicado

durante el almacenamiento, debido a que el ambiente de luz LED y temperatura elevada acelera los procesos de degradación o interacción entre componentes en la bebida saborizada. Por otro lado, las diferencias en la variación del contenido de sales también encuentran eco en el trabajo de Pérez (2022) quien compara bebidas con distintos niveles de electrolitos. Aunque su estudio se centra en la rehidratación post ejercicio, subrayan la relevancia de mantener la concentración adecuada de sodio, potasio y electrolitos en la bebida para deportistas para garantizar su efectividad. Estas investigaciones demuestran que tanto la formulación inicial como las condiciones de almacenamiento son factores claves para mantener la funcionalidad y estabilidad de las bebidas isotónicas y deportivas.

Al medir la conductividad de la muestra, se obtienen los siguientes datos en esta investigación a condiciones a luz LED a 35°C que son de 212,67 μS para el día 1 y de 424,33 μS durante los 15 días, siendo este el tratamiento que mayor concentración tiene. Por su parte, Mejía (2023b) en su estudio, destaca la ausencia de normas específicas en cuanto a valores de conductividad para bebidas. Por esta razón, compara sus datos con bebidas comerciales como Gatorade cuya conductividad oscila entre 2300 a 2220 μS . A pesar de la diferencia entre los valores, estos datos revelan que la bebida elaborada se sitúa entre los rangos aceptados para este tipo de productos. Por otro lado, Vargas (2021) destaca que la conductividad del agua está asociada con la concentración de sales en disolución. Además, explica que la solubilidad de las sales en el agua está sujeta a la temperatura, por lo que este parámetro varía en conformidad con la temperatura del agua esto justifica el aumento de la misma en el tratamiento indicado.

La determinación de sólidos totales disueltos en el tratamiento con luz LED a 35 °C, muestra un aumento de 135,67 mg/L del día 1 a 243,67 mg/L al día 15, a diferencia de los demás tratamientos a diferentes temperaturas donde los valores no varían significativamente. Según Lemus (2023) menciona que los TDS aumentan significativamente con la temperatura y la exposición a la luz. En su estudio, los líquidos almacenados bajo luz y temperaturas

elevadas muestran una mayor disolución de sólidos debido a que incrementa la energía térmica y los procesos fotoquímicos, esto coincide con el aumento de los valores que se obtienen durante la medición de este parámetro. Por otro lado, Lara (2024) reporta un comportamiento similar al analizar líquidos bajo condiciones controlada, donde los TDS aumentan gradualmente en presencia de luz y altas temperaturas, debido a procesos químicos y microbiológicos que liberan más sólidos al medio, coincidiendo con lo que menciona Lemus. Esto se alinea con el tratamiento de luz LED a 35 °C. Además, Lara señala que, en condiciones de oscuridad o luz a bajas temperatura, los TDS tienden a mantenerse estables o disminuir ligeramente, un patrón observado en los tratamientos a 5°C, 28°C y 35°C de la tabla analizada.

La medición de pH ácido (3.19 a 4.91) que se obtiene está asociado en función de la cantidad de ácido cítrico que se usa en su elaboración (Tabla 1); Medrano (2023) en su investigación usa vitamina C el cuál es más potente, lo que puede explicar la obtención de sus resultados en los que el pH oscila entre 3,5 y 5,0 a diferencia de Erazo (2018) quien argumenta que en la medición de la bebida que contenía lactosuero con adición de guaraná tuvo un aumento a un pH de 4,64 debido a que el aumentar la cantidad de suero en la formulación el enranciamiento de la grasa hace que el pH aumente de manera gradual. Sin embargo, en el presente estudio el pH se mantuvo entre durante los 15 días, debido a que el ácido cítrico es una opción más estable y segura, ya que es frágil, pero mantiene una estabilidad química óptima en cuanto a condiciones comunes de almacenamiento (ISQUISA, 2020). Estas investigaciones demuestran que los rangos obtenidos de pH se encuentran dentro de lo aceptado en cuanto a bebidas refrescantes.

En el análisis de °Brix a las diferentes condiciones de almacenamiento y temperaturas, los valores permanecen constantes, sin cambios significativos. Este comportamiento contrasta con el estudio de Hervas (2011) quien reporta valores finales de sólidos solubles que oscilan desde 7,20 a 7,35 °Brix tras un período de fermentación de 15 días para la obtención de una

bebida carbonatada tipo champagne, la diferencia se atribuye a que en el presente trabajo no se incluyen procesos de fermentación que puedan alterar este parámetro. Por otro lado, en su investigación, Cadena (2015) recalca que en la elaboración de una bebida energética a partir de excedentes de cacao al extraer el jugo del tamarindo el contenido de sólidos solubles desciende de 60 °Brix a 18 °Brix, ella explica que esto se debe a la adición de ácido cítrico debido a que este toma importancia en la proporción °Brix/acidez al momento de elaborar bebidas a diferencia del siguiente estudio ya que el ácido cítrico no influye significativamente y mantiene los sólidos solubles de la bebida.

Finalmente, se puede comprender que los °Brix no se ven afectados ni por la temperatura ni por la presencia de luz LED durante el período de almacenamiento.

En la cuantificación de aerobios mesófilos durante su investigación Molero (2017) menciona que en su bebida a dos tratamientos obtuvo valores de 35 y 38 UFC, los cuales considera que son un indicativo de inocuidad para las bebidas, debido a que el único aumento microbiano está relacionado con los cultivos probióticos inoculados. Sin embargo, en el presente estudio no se utiliza cultivos probióticos y se somete la bebida a diferentes condiciones de temperaturas, donde el sorbato de potasio evita el crecimiento elevado de estos microorganismos y los valores que se registran se encuentran dentro de lo permitido por la NTE INEN 1529-5, (2012).

Por otra parte, el desarrollo de aerobios registrado por Bernal (2021) se debe a una combinación de factores ambientales que permiten la proliferación microbiana, incluso bajo condiciones controladas, según los resultados obtenidos, el crecimiento observado a 5 °C en oscuridad son de 0 a 3 NE/cm³, esto puede explicarse por la capacidad de ciertos microorganismos de adaptarse y desarrollarse lentamente a bajas temperaturas, lo que les permite sobrevivir, aunque su crecimiento es mínimo se encuentra dentro de lo aceptado por la norma inen en cuanto a mesófilos aerobios. A su vez, la ausencia de crecimiento a temperaturas

más altas (28°C y 35°C) puede darse debido a que, a temperaturas más elevadas y debido a los aditivos conservadores utilizados, crean un ambiente desfavorable para el crecimiento microbiano, limitando la proliferación de aerobios mesófilos en esas condiciones.

Conclusión

Se determinó que el método de extracción adecuado para la concentración de antocianinas de flores de *Clitoria* fue mediante agitación en función de la absorbancia medida a 600 nm, así, el colorante extraído por agitación mostró una mayor concentración alcanzando 16,532 mg/L, en comparación con el obtenido por maceración, que alcanzó 13,359 mg/L. Por lo tanto, se eligió la agitación como el método de extracción superior.

Se estableció a través de la medición de la absorbancia y de los parámetros fisicoquímicos evaluados en la bebida saborizada al transcurrir 15 días que el tratamiento que mantuvo la estabilidad fue el aplicado a condiciones de oscuridad y 5°C a diferencia de los demás tratamientos que mostraron variaciones significativas.

Se comprobó que la estabilidad del colorante extraído de flores de *Clitoria ternatea* (delfinidina) se ve afectada en condiciones de altas temperaturas (35°C) y condiciones de luz LED.

Referencias bibliográficas

- Ayala José. (2023). Estudio de la estabilidad del colorante extraído del rábano (*Raphanus sativus*) en una bebida no carbonatada base. 1–63. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/37918/1/CAL%20044.pdf>
- Bernal Lucy. (2021). Evaluación sensorial y vida útil de una bebida formulada a base de garbanzo (*cicer arietinum* L.), frejol de palo (*cajanus cajan* L.) Y lactosuero dulce saborizada con chocolate. Escuela académico profesional de ingeniería agroindustrial y comercio exterior.
- Cadena Fanny. (2015). Diseño del proceso para la elaboración de una bebida energética a partir de excedentes de cacao. Escuela Superior Politécnica del litoral.
- Díaz Nieves. (2017). Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. 1–8.

- Erazo Fredy. (2018). Elaboración de una bebida energizante a base de lacto suero dulce con adición de guaraná. *Revista Caribeña de Ciencias Sociales*, 1–19.
- Flores Edilberto. (2017). Extracción de Antioxidantes de las Bayas del Sauco (*Sambucus nigra* L. subsp. *peruviana*) con Ultrasonido, Microondas, Enzimas y Maceración para la obtención de Zumos Funcionales. *Información Tecnológica*, 28(10.4067/S0718-07642017000100012), 1–12. <https://www.scielo.cl/pdf/infotec/v28n1/art12.pdf>
- Hervas Patricia. (2011). “Estudio de la influencia de los grados brix del chaguar mishque para la obtención de una bebida carbonatada tipo champagne [Universidad Técnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/server/api/core/bitstreams/e5f7b8b0-cdf9-4bcb-94c0-ea87d64f4a85/content>
- ISQUISA. (2020). Hoja de datos de seguridad Ácido Cítrico.
- Jamil, N., Mohd Zairi, M. N., Mohd Nasim, N. A., & Pa’ee, F. (2018). Influences of Environmental Conditions to Phytoconstituents in *Clitoria ternatea* (Butterfly Pea Flower) – A Review. *Journal of Science and Technology*, 10(2), 208–228. <https://doi.org/10.30880/jst.2018.10.02.029>
- Jiménez Alexandra. (2022). Optimización de recursos de una planta embotelladora de agua purificada mediante el aprovechamiento de su línea de producción para la elaboración de bebidas no carbonatadas saborizadas. Escuela superior politécnica del litoral.
- Jurado Ivonne, Cifuentes Diego, & Hurtado Nelson. (2020). Evaluación de métodos de extracción de las antocianinas del fruto de *Eugenia malaccensis* y su caracterización por HPLC-ESI-MS. *Revista Cubana de Química*, 32(ISSN), 1–15. <http://scielo.sld.cu/pdf/ind/v32n1/2224-5421-ind-32-01-45.pdf>
- Lara Diana. (2024). Bebida funcional elaborada con base de harina de plátano (musa AAA cavendish) como fuente de prebiótico.
- Lemus Josué. (2023). Elaboración y evaluación de bebida fermentada Kombucha.
- Manjula P, Mohan. C. D. S. B. K. A. B. P. D. (2013). PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF CLITORIA TERNATEA LINN., A VALUABLE MEDICINAL PLANT. <https://www.researchgate.net/publication/277247891>
- Marcano Deanna. (2018). Introducción a la Química de los Colorantes (pp. 1–254). <http://saber.ucv.ve/bitstream/10872/19390/1/colorantes%20listo%20%2Bisbn.pdf>
- Martínez Nieves. (2011). Antocianinas y actividad anti radicales libres de *Rubus adenotrichus* Schltdl (zarzamora). 42, 1–7.
- Medrano Bryan. (2023). Efecto de la aceptabilidad sensorial de la bebida carbonatada de calidad elaborada a diferentes concentraciones de jugo de tumbo serrano (*Passiflora tripartita*). Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Mejía Gabriela. (2023a). Elaboración de una mezcla en polvo isotónica enriquecida con aminoácidos de cadena ramificada para preparar una bebida destinada a deportistas.
- Mejía Gabriela. (2023b). Elaboración de una mezcla en polvo isotónica enriquecida con aminoácidos de cadena ramificada para preparar una bebida destinada a deportistas.
- Molero Mónica. (2017, May 8). Calidad fisico-química, microbiológica y vida útil de bebidas probióticas fermentadas a base de lactosuero. <https://www.redalyc.org/journal/959/95953315002/html/>
- NTE INEN 382. (2013). Norma Técnica Ecuatoriana. file:///C:/Users/Usuario/Downloads/pdf-norma-tecnica-ecuatoriana-nte-inen-3822013-segunda-revision_compress.pdf
- NTE INEN 1083:1984. (2013). Norma técnica ecuatoriana bebidas gaseosas. Determina. INEN Instituto Ecuatoriano de Normalización, 1–7.
- NTE INEN 1529-5. (2012). Instituto Ecuatoriano de Normalización la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos REP.
- NTE INEN 1727. (2011). Norma técnica ecuatoriana vidrios de seguridad. Determinación de la transmisión luminosa. INEN Instituto Ecuatoriano de Normalización, 1–7.

- NTE INEN 2200. (2017). Norma Técnica Ecuatoriana Agua Purificada envasada. Requisitos.
- NTE INEN 2304. (2017). Norma técnica ecuatoriana refrescos o bebidas no carbonatadas. Requisitos. Primera Revisión. INEN Servicio Ecuatoriano de Normalización, 1–6.
- Oguis, G. K., Gilding, E. K., Jackson, M. A., & Craik, D. J. (2019). Butterfly pea (*Clitoria ternatea*), a cyclotide-bearing plant with applications in agriculture and medicine. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 10). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00645>
- Ozaeta Lourdes. (2015). Evaluación de un extracto vegetal para utilizarse como indicador ácido-base a partir del contenido de pigmentos antocianícos, presentes en la cáscara de rábano rojo (*Raphanus sativus* var) a nivel laboratorio.
- Pérez Alexandra, A. L. (2022). Rehidratación post-ejercicio: bebidas con alto contenido de potasio vs. agua y una bebida deportiva.
- Quinatoa Stefanny. (2022). Evaluación organoléptica y fisicoquímica de una cerveza artesanal tipo ale con adición de pulpa de maracuyá (*Passiflora edulis* L.). Universidad Agraria del Ecuador.
- Silva José. (2023a). Estudio de la estabilidad del colorante extraído del rábano (*Raphanus sativus*) en una bebida no carbonatada base. 1–63.
- Silva José. (2023b). UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN. <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/CAL%20044.pdf>
- Vargas Diego. (2021). Uso de microorganismos eficientes para el tratamiento de aguas residuales provenientes de una embotelladora de bebidas carbonatadas y jugos en sachaca.
- Vidana Gamage, G. C., Lim, Y. Y., & Choo, W. S. (2022). Sources and relative stabilities of acylated and nonacylated anthocyanins in beverage systems. In *Journal of Food Science and Technology* (Vol. 59, Issue 3, pp. 831–845). Springer. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05054-z>
- Villacís Martin. (2021). Fuentes naturales de origen vegetal para la obtención de antocianinas. Universidad Técnica de Ambato.
- Weerasinghe, T., & Perera, D. (2022). Butterfly pea: An emerging plant with applications in food and medicine. <https://www.researchgate.net/publication/361508367>