



**FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA**

**PROGRAMA PARAGUAYO PARA EL DESARROLLO DE LA CIENCIA Y  
TECNOLOGÍA**

**MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA EN ALIMENTOS**

**“ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD FISICOQUÍMICA Y ACEPTABILIDAD DE  
MAYONESA FORMULADA UTILIZANDO EXTRACTO DE YERBA MATE  
(*Ilex Paraguariensis*) COMO ANTIOXIDANTE NATURAL”.**

**AUTOR: LIC. KATHERINE ZAWADSKI**

**DIRECTOR: DRA. ANA EUGENIA THEA**

**CO-DIRECTOR: DR. MIGUEL EDUARDO SCHMALKO R.**

**Encarnación - Paraguay**

**2018**



**DEDICATORIA**

*A mis padres, Graciela y Héctor*

*A mi esposo Nelson*

*A mi hermana*

## **AGRADECIMIENTO**

Primeramente, quiero agradecer a Dios por haberme permitido llegar hasta aquí, el que en todo momento está conmigo ayudándome a aprender de mis errores, y guiando mi camino.

Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT), por apoyar a la formación de jóvenes investigadores en Paraguay, mediante la financiación de la Maestría en Biotecnología en Alimentos.

A la Facultad de Ciencias y Tecnología de la Universidad Nacional de Itapúa por permitir la realización de esta maestría.

A mi directora de tesis Dra. Ana Thea, y a mi co-director Dr. Miguel Schmalko por la paciencia brindada, por guiarme y acompañarme para que el trabajo de investigación culmine con éxito.

Al Dr. Ing. Luis Brumovsky, por permitirme realizar mi trabajo en el laboratorio de la Fundación para el Desarrollo e Investigación Científica y Tecnológica (DINCYT).

A mis padres, hermana y amigos por la contención, apoyo e incentivo incondicional. A Nelson, mi amado esposo, por su apoyo y motivación para la culminación de este trabajo, por su amor y paciencia, haciendo más llevadero este proceso.

*Katherine Zawadski*

## ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA .....	I
AGRADECIMIENTO .....	II
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VI
ÍNDICE DE TABLAS .....	VIII
RESUMEN .....	IX
ABSTRACT.....	X
INTRODUCCIÓN .....	1
OBJETIVOS .....	4
CAÍTULO I.....	5
MARCO TEÓRICO.....	5
1. MAYONESA .....	6
1.1.Deterioro de la mayonesa .....	7
1.2.Aditivos .....	8
1.2.1. Antioxidantes.....	8
1.2.1.1.Antioxidantes sintéticos.....	9
1.2.1.2.Antioxidantes naturales.....	9
1.2.2. Estabilizantes .....	11
2. YERBA MATE ( <i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.).....	12
2.1.Composición química.....	13
2.1.1. Compuestos polifenólicos.....	13
2.1.2. Metilxantinas .....	14
2.1.3. Saponinas .....	14
2.2.Propiedades Biológicas .....	14
2.2.1. Acción antioxidante .....	15
2.2.2. Acción antimicrobiana.....	15
3. ALIMENTOS FUNCIONALES .....	16
CAPÍTULO II.....	19
METODOLOGÍA.....	19
1. PROPUESTA METODOLÓGICA .....	20
1.1.Etapa 1. Ensayos preliminares.....	20
1.2.Etapa 2. Estudio de la estabilidad oxidativa, color y análisis sensorial de mayonesas formuladas utilizando extracto de yerba mate como antioxidante natural .....	21
2. MATERIALES Y MÉTODOS .....	22
2.1.Obtención de muestras de mayonesa.....	22
2.2.Estudio de las propiedades funcionales del extracto de yerba mate.....	24
2.2.1. Contenido de polifenoles totales.....	24
2.2.1.1.Reactivos.....	25

2.2.1.2.Preparación de soluciones patrón .....	25
2.2.1.3.Procedimiento .....	25
2.2.2. Capacidad de captación de radical libre DPPH●.....	26
2.2.2.1.Reactivos.....	26
2.2.2.2.Preparación de las soluciones patrón .....	27
2.2.2.3.Procedimiento .....	27
2.3.Estudio de la estabilidad oxidativa de la mayonesa durante su almacenamiento.....	28
2.3.1. Determinación de humedad – Método de destilación directa.....	28
2.3.1.1.Reactivo .....	28
2.3.1.2.Procedimiento .....	29
2.3.2. Extracción de la grasa por el método de Bligh & dyer (1959) .....	29
2.3.2.1.Reactivos.....	30
2.3.2.2.Procedimiento .....	30
2.3.3. Índice de acidez .....	30
2.3.3.1.Reactivos.....	30
2.3.3.2.Procedimiento .....	31
2.3.4. Índice de peróxido .....	31
2.3.4.1.Reactivos.....	31
2.3.4.2.Procedimiento .....	31
2.3.5. Índice de Kreis.....	32
2.3.5.1.Reactivos.....	32
2.3.5.2.Procedimiento .....	32
2.4.Evaluación de parámetros de color (L, a y b) de la mayonesa durante su almacenamiento .....	33
2.5.Estabilidad física .....	34
2.6.Evaluación sensorial de la mayonesa .....	34
2.6.1. Diferencias sensoriales (Test del triángulo) .....	34
2.6.2. Prueba hedónica.....	35
2.7.Análisis estadístico .....	35
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>37</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>37</b>
1. CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DEL EXTRACTO DE YERBA MATE.....	38
1.1.Contenido de polifenoles totales y capacidad de captación de radical libre DPPH●.38	
2. ENSAYOS PRELIMINARES.....	38
2.1.Índice de acidez .....	38
2.2.Índice de peróxido .....	40
2.3.Índice de Kreis.....	43
2.4.Estabilidad física .....	44
2.5.Conclusiones de los ensayos preliminares .....	44
3. PRUEBA ACELERADA DE LA ESTABILIDAD FISICOQUÍMICA DE MAYONESAS FORMULADAS UTILIZANDO EXTRACTO DE YERBA MATE COMO AGENTE ANTIOXIDANTE .....	45

3.1.Índice de acidez .....	45
3.2.Índice de peróxido .....	49
3.3.Índice de Kreis.....	53
3.4.Estabilidad física .....	54
4. EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE COLOR (L, a Y b) DE LA MAYONESA DURANTE SU ALMACENAMIENTO .....	55
4.1.Parámetro L .....	56
4.2.Parámetro a .....	58
4.3.Parámetro b.....	60
5. ANÁLISIS SENSORIAL .....	62
5.1.Test del triángulo .....	63
5.2.Prueba hedónica.....	63
5.2.1. Textura.....	63
5.2.2. Color .....	64
5.2.3. Aroma .....	65
5.2.4. Sabor .....	66
5.2.5. Aceptabilidad General .....	67
CAPÍTULO IV.....	69
CONCLUSIONES .....	70
RECOMENDACIONES.....	71
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
ANEXOS .....	79

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Trampa de Dean Stark para la determinación de humedad en alimentos por destilación directa.....	29
Figura 2. Ensayos preliminares. Evolución del Índice de acidez (% ácido oleico) de muestras de mayonesas durante su almacenamiento. ....	39
Figura 3. Ensayos preliminares. Índice de acidez (% ácido oleico) de las muestras de mayonesa. ....	40
Figura 4. Ensayos preliminares. Evolución del Índice de peróxido (meq O <sub>2</sub> /kg) de muestras de mayonesas durante su almacenamiento. ....	42
Figura 5. Ensayos preliminares. Índice de peróxido (meq O <sub>2</sub> /kg) de las muestras de mayonesa. ....	42
Figura 6. Ensayos de estabilidad. Evolución del Índice de acidez (% ácido oleico) de muestras de mayonesas durante su almacenamiento. ....	46
Figura 7. Ensayos de estabilidad. Índice de acidez (% ácido oleico) de las muestras de mayonesa.....	48
Figura 8. Ensayos de estabilidad. Evolución del Índice de peróxido (meq O <sub>2</sub> /kg) de muestras de mayonesas durante su almacenamiento. ....	50
Figura 9. Ensayos de estabilidad. Índice de peróxido (meq O <sub>2</sub> /kg) de las muestras de mayonesa. ....	52
Figura 10. Evolución del parámetro de color <i>L</i> de las muestras de mayonesa. ....	57
Figura 11. Parámetro de color <i>L</i> de las muestras de mayonesa. ....	58
Figura 12. Evolución del parámetro de color <i>a</i> de las muestras de mayonesa. ....	59
Figura 13. Parámetro de color <i>a</i> de las muestras de mayonesa. ....	60
Figura 14. Evolución del parámetro de color <i>b</i> de las muestras de mayonesa. ....	61
Figura 15. Parámetro de color <i>b</i> de las muestras de mayonesa. ....	62
Figura 16. Puntajes medios para la textura de las mayonesas. ....	64
Figura 17. Puntajes medios para el color de las mayonesas. ....	65
Figura 18. Puntajes medios para el aroma de las mayonesas. ....	66
Figura 19. Puntajes medios para el sabor de las mayonesas.....	66

Figura 20. Puntajes medios para la aceptabilidad general de las mayonesas. ....	67
---	----

**ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Formulaciones de las mayonesas - Ensayos preliminares. ....	21
Tabla 2. Fórmulas de las muestras de mayonesa. ....	24
Tabla 3. Ensayos preliminares. Prueba de Kreis.....	43
Tabla 4. Ensayos preliminares. Estabilidad física de las mayonesas.....	44
Tabla 5. Valores de índice de acidez (%ácido oleico) de las muestras de mayonesas. ....	46
Tabla 6. Valores de índice de peróxido (meq O <sub>2</sub> /kg) de las muestras de mayonesas.....	50
Tabla 7. Prueba de Kreis - estudio de la estabilidad. ....	54
Tabla 8. Estabilidad física de las mayonesas – estudio de la estabilidad. ....	55
Tabla 9. Parámetros de color <i>L</i> , <i>a</i> y <i>b</i> de las muestras de mayonesa. ....	56

## RESUMEN

Ha sido ampliamente demostrado que el extracto de yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) puede ser utilizado como antioxidante natural en la formulación de alimentos debido a su alto contenido de polifenoles. Teniendo en cuenta esto, se estudió el efecto antioxidante del extracto de yerba mate en muestras de mayonesa durante su almacenamiento. Para ello, se formularon tres mayonesas utilizando yema en polvo, aceite de girasol, agua, vinagre, azúcar, sal, goma xantan, goma guar como ingredientes principales y como agente antioxidante se les adicionó *a*) 0,02 %p/p de butilhidroxitolueno (BHT) (Control) y extracto de yerba mate al *b*) 0,4 % p/p (YM4) y *c*) de 0,8 %p/p (YM5). La estabilidad fisicoquímica de las mayonesas se evaluó midiendo el índice de peróxido, índice de acidez, índice de Kreis y los parámetros de color (*L*, *a* y *b*) a intervalos de tiempo durante 45 días.

La mayonesa que contenía 0,8% p/p del extracto mostró una mejor estabilidad oxidativa durante el almacenamiento, respecto a la mayonesa formulada utilizando butilhidroxitolueno (BHT) como antioxidante. Este estudio sugiere que el extracto de yerba mate podría usarse como antioxidante natural en alimentos con alto contenido de grasa y como sustituto antioxidantes químicos. También se evaluaron los parámetros sensoriales a través de degustaciones (test del triángulo y la aplicación de la escala hedónica), pudiéndose apreciar la amplia aceptación de la mayonesa con extracto de yerba mate por parte de los panelistas, con valores superiores al de la muestra control y a muestras comerciales.

**Palabras claves:** *Ilex paraguariensis*, extracto de yerba mate, antioxidante natural, mayonesa.

## ABSTRACT

It has been widely demonstrated that yerba mate extract (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) can be used as a natural antioxidant in food formulation due to its high polyphenol content. Considering this, the antioxidant effect of yerba mate extract on mayonnaise samples during storage was studied.

Three mayonnaises were formulated using powdered yolk, sunflower oil, water, vinegar, sugar, salt, xanthan gum, guar gum as main ingredients and as an antioxidant agent were added a) 0.02% w/w of butylhydroxytoluene (BHT) (Control) and yerba mate extract at b) 0.4% w/w (YM4) and c) 0.8% w/w (YM5). The physicochemical stability of the mayonnaises was evaluated by measuring the peroxide index, acid number, Kreis index and the color parameters (*L*, *a* and *b*) at time intervals for 45 days.

Mayonnaise containing 0.8% w/w of the extract showed better oxidative stability during storage, compared to mayonnaise formulated using butylated hydroxytoluene (BHT) as an antioxidant. This study suggests that yerba mate extract could be used as a natural antioxidant in high fat food and as a substitute for chemical antioxidants. The sensory parameters were also evaluated using sensory tests (triangle test and the application of the hedonic scale), being able to appreciate the wide acceptance of mayonnaise with yerba mate extract by the panelists, with values higher than the control sample already commercial samples.

**Key words:** *Ilex paraguariensis*, yerba mate extract, natural antioxidant, mayonnaise.

## INTRODUCCIÓN

Una de las salsas más populares del mundo es la mayonesa que a diario acompaña varios platos. Entre sus ingredientes se puede mencionar al huevo, agua, vinagre y una gran cantidad de aceite; la vida útil de la misma suele ser limitada debido principalmente a la oxidación de los lípidos (Kwon *et al.*, 2015). Esta oxidación de los ácidos grasos insaturados ha sido el principal foco de las investigaciones que se dirigen a la inestabilidad química de emulsiones (Ghorbani *et al.*, 2016).

Una de las principales consecuencias de la oxidación de los lípidos de las matrices alimentarias, es que conduce al desarrollo de productos indeseables que conllevan a la disminución de la calidad nutricional, de la vida útil y le otorgan olores y sabores rancios al producto. Actualmente, se utilizan antioxidantes sintéticos para retardar la oxidación de los lípidos en alimentos ricos en grasas. Entre los más utilizados se encuentran el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), el hidroxitolueno butilado (BHT) y el hidroxil anisol butilado (BHA) (Kwon *et al.*, 2015). Sin embargo, éstos aditivos, si bien son más económicos, han demostrado tener efectos tóxicos en altas concentraciones (Ghorbani *et al.*, 2016).

Existen estudios que demuestran que los extractos orgánicos que contienen compuestos fenólicos pueden ser utilizados como antioxidantes naturales por la industria alimentaria, reemplazando los aditivos sintéticos usados hoy en día (Markowicz Bastos *et al.*, 2007).

Esta alternativa a los antioxidantes convencionales ha demostrado un creciente interés sobre los extractos derivados de plantas y especias que contienen un alto contenido de polifenoles y que son buenas fuentes de compuestos antioxidantes.

Diversos autores han comprobado el efecto antioxidante de extractos de romero, jengibre, pimienta (Kwon *et al.*, 2015), remolacha (Raikos *et al.*, 2016), salvia (Rasmy *et al.*, 2012) y semilla de uva en mayonesa (Altunkaya *et al.*, 2013). Asimismo, la acción como antioxidante natural de extractos de yerba mate fue evaluada en salchichas (Beal *et al.*, 2011), en carne de pollo (Racanizzi *et al.*, 2008; Camel *et al.*, 2012), en yogur (Preci *et al.*, 2011) y en chocolate blanco (Zanchett *et al.*, 2016).

### 1. Justificación

En el presente la industria alimentaria prioriza la funcionalidad de los alimentos para la salud humana, tendiendo a utilizar, por ejemplo, extractos de plantas aplicando sus propiedades al producto con el fin además de sustituir ingredientes y conservantes sintéticos, los que suelen ser nocivos para los consumidores (Beal *et al.*, 2011).

Una planta nativa del suelo paraguayo y muy consumida por la población es la yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), originaria de la selva subtropical paranaense que se localiza en el corazón de la Cuenca del Plata. La yerba mate es producida sólo en tres países, a saber: Argentina, Brasil y Paraguay (Prat Krikun, 2015).

En Paraguay, la producción de yerba mate constituye un rubro de elevada importancia para la agroindustria. El Presidente del Centro Yerbatero Paraguayo ha mencionado que actualmente, Paraguay cuenta con una producción anual de 40 millones de kg de yerba mate canchada, siendo los departamentos con mayor producción Itapúa y Guaira.

*Ilex paraguariensis* es muy rica en diferentes compuestos biológicamente activos, tales como polifenoles, metilxantinas y saponinas triterpénicas, que le otorgan efectos promotores de la salud, en especial su alta capacidad antioxidante. Por este motivo, la planta de yerba mate forma parte del acervo cultural de nuestra Nación y ha sido ampliamente utilizada en la medicina popular durante siglos (Nairne *et al.*, 2013).

Markowicz *et al.*, (2006) han demostrado que los extractos de *Ilex paraguariensis* tienen la misma eficacia antioxidante que el BHT, un conocido antioxidante fenólico dentro de las condiciones utilizadas en su estudio. Por otra parte, Racanicci *et al.*, (2008), Beal *et al.*, (2011), Preci *et al.*, (2011), Camel *et al.*, (2012) y Zanchett *et al.*, (2016) investigaron el extracto de hojas de yerba mate como agente antioxidante potencial en productos alimenticios con resultados positivos frente a la oxidación de lípidos.

## **2. Interés**

El uso de aderezos como la mayonesa han ganado un espacio considerable en la industria gastronómica debido al efecto que estos tienen en la combinación con algunos alimentos ya que proporcionan sabores extra al paladar (Borda, 2011).

Teniendo en cuenta esto y que actualmente las industrias priorizan la funcionalidad del alimento sobre otros atributos, una opción atractiva podría ser la de utilizar plantas nativas como la yerba mate en la formulación de los mismos, aplicando sus propiedades nutraceúticas a un alimento de consumo masivo como la mayonesa.

A su vez, existe un creciente interés de las industrias, sobre todo el de las yerbateras, de darle una alternativa de uso al producto, no comercializarla solamente como yerba mate elaborada, sino como ingrediente para la elaboración de alimentos funcionales.

### 3. Aporte

La yerba mate más allá de su composición nutricional, cumple un importante rol social y cultural en el país. Representa a un rubro fundamental para la economía regional y es un producto imprescindible en la canasta familiar.

Tras varios estudios, se ha demostrado que debido a los compuestos bioactivos naturales que poseen los extractos de ciertos vegetales, incluyendo la yerba mate, pueden ser utilizados en productos alimenticios para mejorar calidad y seguridad de los mismos como conservantes de origen natural (Altunkaya *et al.*, 2013).

Este hecho conlleva a la atracción de nuevos consumidores, ya que la incorporación de antioxidantes naturales no solo tiene un gran potencial para mejorar la estabilidad oxidativa de los productos, sino que la formulación de alimentos funcionales conservados de manera natural también podrían tener beneficios sobre la salud (Ghorbani Gorji *et al.*, 2016).

El presente trabajo aporta conocimientos sobre la utilización de extractos de yerba mate como antioxidante natural en la formulación de alimentos ricos en grasa, retardando su deterioro oxidativo. Sobre la base de estos aspectos, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la utilización del extracto acuoso de yerba mate como antioxidante natural en la formulación de mayonesa.

## **OBJETIVOS**

### **General**

- ✓ Evaluar el efecto de la utilización del extracto acuoso de yerba mate como antioxidante natural en la formulación de mayonesa.

### **Específicos**

- ✓ Determinar la estabilidad fisicoquímica de la mayonesa preparada utilizando diferentes concentraciones de extracto de yerba mate como antioxidante natural.
- ✓ Comparar el efecto antioxidante del extracto de yerba mate con el del BHT (butilhidroxitolueno), antioxidante comúnmente utilizado en la industria.
- ✓ Analizar la aceptabilidad de la mayonesa con el agregado del extracto de yerba mate.



# CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO



## 1. MAYONESA

La mayonesa es una de las salsas más usadas y aceptada por las personas en el mundo, gracias a su sabor, cremosidad, aspecto, textura, comportamiento reológico y parámetros de estabilidad que son de gran importancia aportando propiedades organolépticas que satisfacen las expectativas de los consumidores para este tipo de productos (Alves Gomes *et al.*, 2017).

Badui Dergal, (2006) define a la mayonesa como una emulsión de aceite en agua (consiste en pequeñas gotas de aceite como fase dispersa, contenidas en el agua como fase continua o dispersante), con una alta proporción de aceite (hasta 80%). Sus principales ingredientes además del aceite vegetal son la yema de huevo, sal, agua y vinagre (Rondon *et al.*, 2004).

Según el Código Alimentario Argentino, (2018) se entiende por mayonesa a la salsa constituida por una emulsión de aceite vegetal comestible con al menos 5,0% de huevo entero o líquido o su equivalente en huevo entero, desecado/en polvo o en no menos de 2,5% de yema de huevo fresca o líquida o su equivalente en yema de huevo desecada/en polvo; sazonada con vinagre y/o jugo de limón, con o sin: condimentos, cloruro de sodio y edulcorantes.

Entre los aceites más usados para su elaboración se encuentran el de soja, colza, girasol y maíz. Entre las principales ventajas que presentan estos aceites se puede mencionar que además de que son producidos a bajo costo, se prefieren por su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados y por sus propiedades sensoriales y la textura percibida del producto final (Raikos *et al.*, 2016).

Los productos a base de huevo a menudo se relacionan con brotes de intoxicación alimentaria por *Salmonella spp.*, es por ello que la yema de huevo resulta ser uno de los ingredientes más críticos para la estabilidad microbiana en la elaboración de mayonesa. Sin embargo, es un ingrediente clave debido a su alta capacidad emulsionante, por lo que se recomienda que su presentación sea en polvo pasteurizado (Alves Gomes *et al.*, 2017). A pesar de esto, la mayonesa tiene relativa estabilidad microbiana debido al alto contenido de sal, al bajo pH y también a la presencia de vinagre (Rondon *et al.*, 2004).

El vinagre es el ácido más común usado en la conservación de la mayonesa porque tiene un valor antiséptico, formando una barrera antimicrobiana y también ayuda a prevenir el deterioro y la rancidez. Por otra parte, la sal, además de mejorar el sabor del producto, actúa como conservante, debido a que solamente se disuelve en la fase acuosa que se encuentra en menor cantidad en la emulsión, termina teniendo una alta concentración y, por lo tanto, dificulta el crecimiento microbiano (Alves Gomes *et al.*, 2017).

### 1.1.Deterioro de la mayonesa

Debido a su alto contenido de aceite, la principal causa de deterioro de la mayonesa se debe a las reacciones de oxidación, que producen la rancidez (García Baldizón & Molina Córdoba, 2008).

La oxidación de los lípidos deteriora la calidad del producto produciendo sabores desagradables, olores rancios y la formación de compuestos nocivos que comprometen la seguridad de los alimentos (Raikos *et al.*, 2016). A su vez, estos compuestos generados mantienen y aceleran la reacción (Badui Dergal, 2006).

La mayonesa es susceptible a la autooxidación o también conocida como rancidez oxidativa (Ozdemir *et al.*, 2018), que se refiere a oxidación de los ácidos grasos insaturados y se lleva a cabo cuando un átomo cede un electrón a otro átomo distinto mediante el proceso de la reducción (Badui Dergal, 2006).

La autooxidación de lípidos implica tres etapas: iniciación, propagación y terminación (McClements & Decker, 2000) y está asociada con la reacción del oxígeno con ácidos grasos insaturados (Alves Gomes *et al.*, 2017).

En la primera etapa, la energía externa como la luz, actúa sobre moléculas lipídicas insaturadas o ácidos grasos, en presencia de catalizadores como el metal de transición, para generar un radical libre al perder un átomo de hidrógeno (Ghorbani Gorji *et al.*, 2016).

En la propagación, los radicales libres, que son fácilmente susceptibles al ataque del oxígeno atmosférico, se convierten en otros radicales, produciendo los productos de oxidación primarios (peróxidos e hidroperóxidos), cuya estructura depende de la naturaleza de los ácidos grasos presentes. Los radicales libres formados actúan como propagadores de la reacción, lo que resulta en un proceso autocatalítico (Alves Gomes *et al.*, 2017).

En la etapa de terminación, los productos de oxidación primarios son los radicales de peróxido lipídico ( $\text{ROO}\bullet$ ) y los hidroperóxidos ( $\text{ROOH}$ ), éstos últimos son insípidos, pero se descomponen aún más en aldehídos, cetonas, alcoholes, hidrocarburos, ácidos orgánicos volátiles y compuestos epoxídicos conocidos como productos de oxidación secundarios. En esta etapa los radicales producidos a partir de la etapa de propagación pueden terminarse mediante auto-interacciones para formar especies no radicales, como dímeros polares/no polares oxidados o trímeros de lípidos (Ghorbani Gorji *et al.*, 2016).

La autooxidación se inicia en la interfaz entre el aceite y el agua, donde los prooxidantes (metales de transición) de la fase continua pueden entrar en contacto cercano con los hidroperóxidos ubicados en la superficie de la gota (McClements & Decker, 2000).

Entre los agentes promotores o prooxidantes podemos mencionar a las altas temperaturas, la presencia de metales, la luz, presión de oxígeno, entre otros (Badui Dergal, 2006).

La presencia de metales de transición incluso en pequeñas cantidades, pueden acelerar el proceso de oxidación. El hierro y el cobre son iniciadores de la oxidación que suelen provenir de los equipos y utensilios usados en la elaboración de la mayonesa (Ghorbani Gorji *et al.*, 2016).

Las altas temperaturas aumentan la oxidación de lípidos. Varios estudios, acerca de la estabilidad oxidativa de la mayonesa conservadas a diferentes temperaturas, han comprado esta teoría (García Baldizón & Molina Córdoba, 2008; Chun-Ying *et al.*, 2014; García *et al.*, 2014).

La exposición de la mayonesa a luces con longitudes de onda menores a 470 nm promueve la oxidación de las grasas insaturadas debido a la autooxidación fotolítica, pero a longitudes de onda superiores a la mencionada no tiene ningún efecto. Por ello se recomienda proteger la mayonesa de longitudes de onda menores a 470 nm (Ghorbani Gorji *et al.*, 2016).

## **1.2. Aditivos**

Un aditivo es una sustancia o mezcla de varias sustancias, que se agrega al alimento durante las etapas de producción, envasado y conservación, para lograr ciertos beneficios, entre ellos se puede mencionar el incremento del valor nutritivo, como las vitaminas, aminoácidos y elementos químicos; preservación de los alimentos, como los conservadores, antioxidantes, agentes que reducen la actividad del agua, antiendurecedores y otros; y para mejorar las propiedades sensoriales, como los saborizantes, colores, edulcorantes, espesantes, espumantes, gelificantes y emulsionantes (Badui Dergal, 2006).

### **1.2.1. Antioxidantes**

Los antioxidantes son sustancias que cuando están presentes en concentraciones bajas con respecto a sustratos oxidables, inhiben o retrasan el proceso de oxidación (Fuentes-Berrio *et al.*, 2015), éste es el principal fin de su uso en alimentos (Ghorbani Gorji *et al.*, 2016). Estos

aditivos contienen una o más funciones hidroxilo y actúan en la iniciación y propagación de la oxidación al ceder un átomo de hidrógeno a los radicales ácido graso ( $R\bullet$ ) y a los hidroperóxidos ( $ROO\bullet$ ), restaurando el ácido (RH) y el hidroperóxido ( $ROOH$ ). Es importante tener siempre en cuenta la adición de antioxidantes es con fines preventivos y no actúan en los aceites ya oxidados (Badui Dergal, 2006).

#### **1.2.1.1. Antioxidantes sintéticos**

El butilhidroxianisol (BHA) y el hidroxitolueno butilado (BHT) son los antioxidantes sintéticos más utilizados en mayonesas para prevenir la rancidez y muestran una alta eficacia (Alves Gomes *et al.* 2017). Son considerados como donadores de protones debido a que no detienen la formación de los radicales, sino que reaccionan con ellos, los estabilizan y producen radicales menos activos del antioxidante. En otras palabras, se consumen en la reacción y, en consecuencia, la estabilidad del lípido siempre va a depender de la cantidad residual (Badui Dergal, 2006).

Si bien este tipo de antioxidantes son más económicos que los antioxidantes naturales, tienen una impresión negativa en el consumidor, no solo por ser productos de origen sintético (Ghorbani Gorji *et al.*, 2016), sino también por sus efectos tóxicos y carcinogénicos en altas concentraciones (Martínez-Tomé *et al.*, 2001; Beal, Andreia María Faion, *et al.*, 2011); lo que ha llevado a restringir parcialmente su uso. En consecuencia, actualmente existe un gran interés en todo el mundo por encontrar nuevos antimicrobianos y antioxidantes de fuentes naturales (Alves Gomes *et al.*, 2017).

#### **1.2.1.2. Antioxidantes naturales**

Según Rasmy *et al.*, (2012) las hierbas y las especias no solo le confieren sabor a los alimentos, sino también mejoran la calidad general del producto, prolongando la vida útil de los mismos debido a sus propiedades antioxidantes. La utilización de antioxidantes naturales en lugar de los sintéticos es un tema popular y prometedor en la industria alimentaria (Ozdemir *et al.*, 2018), ya que además de mejorar la estabilidad oxidativa de los alimentos, atraen a un gran número de consumidores (Ghorbani Gorji *et al.*, 2016).

Muchos derivados de fuentes vegetales utilizados como antioxidantes naturales han demostrado buenos resultados para retardar la oxidación en muchos alimentos ricos en grasas

y aceites, como las mayonesas. Varios autores han evaluado la actividad antioxidante de las especias y hierbas agregadas a los aceites puros (García *et al.*, 2014).

Del mismo modo, se destacan los aceites esenciales y sus compuestos aislados que también han sido reconocidos como poderosos antioxidantes naturales y podrían usarse como sustitutos potenciales de los antioxidantes sintéticos (Alves Gomes *et al.*, 2017).

Los materiales vegetales ricos en compuestos fenólicos y otros antioxidantes naturales igualmente presentan actividades antioxidantes, antimicrobianas, antimutagénicas y antiinflamatorias (Kong *et al.*, 2003).

Se ha utilizado el extracto de la cáscara del maíz morado en la formulación de mayonesa en donde se obtuvo un mayor efecto antioxidante que en la mayonesa con antioxidantes químicos (BHT, EDTA) (Chun-Ying *et al.*, 2014).

Generalmente la yerba mate es reconocida como segura y tiene un alto contenido de alcaloides, saponinas y polifenoles (Zawadzki *et al.*, 2017). También se ha comprobado la acción antioxidante de su extracto en salchichas del tipo italiano con efectos positivos (Beal *et al.*, 2011), y en el almacenamiento refrigerado por hasta 10 días en albóndigas precocidas hechas de pechuga de pollo, en la cual se encontró que la yerba mate (0,05 y 0,10%) proporcionaba una protección igual o mejor que el romero en la misma concentración contra la formación de productos secundarios de oxidación de lípidos (Racan Ricci *et al.*, 2008). Por otra parte, De Campos *et al.*, (2007) manifestó tras un estudio, que el uso de extracto de yerba mate controló la oxidación de lípidos en salami de carne de cerdo.

El uso del aceite de comino negro prensado en frío mejoró la estabilidad oxidativa de la mayonesa almacenada a 20°C durante 4 semanas, en comparación con la mayonesa control sin el agregado de aceite de comino negro (Ozdemir *et al.*, 2018).

Raikos *et al.*, (2016) investigaron la estabilidad oxidativa de la remolacha roja que posee una interesante actividad antioxidante, principalmente debido a la presencia de betalaínas. En el estudio no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras de mayonesa que contenían remolacha y el control comercial almacenados a 4°C durante 4 semanas.

Igualmente se destacan los estudios de la capacidad antioxidante de extractos de romero, jengibre, pimienta (Kwon *et al.*, 2015), salvia (Rasmy *et al.*, 2012) y semilla de uva en mayonesa (Altunkaya *et al.*, 2013), entre otros.

Los extractos de especias, como clavo, romero, salvia, orégano y pimienta gorda que presentan actividad antioxidante, en ocasiones es difícil su uso como antioxidantes naturales en los alimentos debido a su intenso aroma y color (Badui Dergal, 2006). Sin embargo, es necesario realizar más estudios para evaluar la eficacia y seguridad de estos productos, principalmente en su aplicación en mayonesa, ya que contiene una variedad de componentes diferentes, y aún se desconoce la influencia de estos componentes en la efectividad en actividad antioxidante y antimicrobiana (Alves Gomes *et al.*, 2017).

Un factor negativo común asociado al uso de extractos de plantas como conservante de alimentos es su efecto sobre las propiedades sensoriales de los productos alimenticios. El sabor de la yerba mate ha sido descrito como amargo, ácido, astringente, húmedo y tostado (Burriss *et al.*, 2012). Sin embargo, en el estudio realizado por Racanicci *et al.*, (2008), el uso de extractos secos y acuosos de yerba mate no tuvo efecto sobre el sabor u olor de las albóndigas de carne de pollo precocidas, lo que indica su posible aceptación sensorial en los productos alimenticios.

### **1.2.2. Estabilizantes**

Los estabilizantes son macromoléculas que se disuelven o dispersan fácilmente para produciendo un gran aumento en la viscosidad. Los estabilizantes usados en las mayonesas, por excelencia, son las gomas que además de ser espesantes y gelificantes, al ser agregados en aderezos presentan propiedades funcionales como estabilizantes y emulsionantes (Badui Dergal, 2006); todo esto contribuye a una mayor estabilidad, evitando defectos en la textura, aportando cuerpo y mejorando las propiedades organolépticas del producto final (Rincón *et al.*, 2008).

Las gomas presentan un gran campo de aplicación como ser helados, jugos de frutas, confiterías, quesos, mermeladas, embutidos, productos dietéticos, aderezos, entre otros. Es importante resaltar que la combinación de dos o más gomas muchas veces tiene un efecto sinérgico, es decir, se generan nuevas propiedades funcionales que no las presentan de manera individual; éste es el caso de la emulsificación de sistemas aceite/agua, que se logra con mezclas de gomas como la guar y la xantan (Badui Dergal, 2006).

La goma guar se obtiene del endospermo de la semilla leguminosa *Cyamopsis tetragonolobus*. Una de sus principales características es que es soluble en agua fría, y su

solubilidad va aumentando conforme su la temperatura. Asimismo es prácticamente inalterable a los cambios de pH debido a que no cuenta con grupos ionizables. Está conformada por azúcares neutros por lo que la presencia de sales no suele afectarla. Otra característica relevante es la consideración como aditivo “generalmente reconocido como seguro” (GRAS) por parte de la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA). Además de ser utilizado en salsas y aderezos como la mayonesa, también se aplica en productos lácteos y en bebidas de frutas (Badui Dergal, 2006).

La goma xantano es un heteropolisacárido ramificado sintetizado por diferentes especies de bacterias *Xanthomonas*, principalmente *X. campestris*, que produce la goma como una cobertura de protección. Es considerada como una goma pseudoplástica, soluble en agua fría o caliente, y forma soluciones muy viscosas estables a la presencia de diversas sales en el medio; entre otras de sus características también podemos mencionar que es resistente a la degradación enzimática, resiste los procesos de congelación y descongelación, y a su vez es compatible con otras gomas. La FDA ha permitido el uso de este aditivo. Presenta las mismas aplicaciones que la goma guar como ser el caso de los aderezos (mayonesas) y además, se recomienda su uso en la producción de artículos cocinados, bebidas y fruta procesada (Badui Dergal, 2006).

## **2. YERBA MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)**

La yerba mate es una planta originaria de la región subtropical de Sudamérica, presente en el sur de Brasil, norte de Argentina, Paraguay y Uruguay. Su consumo por los indios nativos de Sudamérica remota a cuando el mundo nuevo fue descubierto por los europeos (Markowicz Bastos *et al.*, 2007).

Se caracteriza principalmente por ser un producto importante en el contexto socioeconómico cultural (Piovezan-Borges *et al.*, 2016). El consumo más tradicional de esta planta es en forma de mate o tereré, que depende de la temperatura del agua utilizada, para el primero se utiliza agua caliente y para el tereré agua fría; así también la infusión de yerba mate o mate cocido (Cardozo Junior & Morand, 2016). Esta tradición representa un papel social muy importante y el hecho de ofrecerla y compartirla tiene connotaciones similares a las de la ceremonia del té para algunas culturas orientales (Ferreira Cuelho *et al.*, 2015).

La yerba mate es explotada e industrializada para la producción de bebidas tónicas y estimulantes no alcohólicas, pero principalmente para la obtención de yerba mate elaborada.

La demanda de estos productos ha aumentado en otros países, incluyendo Estados Unidos, Alemania y Siria, y se ha expandido a España, Italia, Australia, Francia, Japón y Rusia, debido a su sabor, propiedades estimulantes y energizantes (Cardozo Junior & Morand, 2016).

## **2.1.Composición química**

En lo que refiere a su composición, la yerba mate es rica en compuestos antioxidantes, minerales y vitaminas; sus extracto se caracterizan principalmente por su elevado contenido de polifenoles totales (Deladino *et al.*, 2008). Presenta una diversidad de componentes, incluyendo nutrientes, minerales y vitaminas hidrosolubles. Se caracteriza a su vez, por ser rica en fitoquímicos en particular, alcaloides (metilxantinas, incluyendo cafeína, teobromina, teofilina), terpenos (carotenoides, saponinas) y polifenoles (ácidos fenólicos, flavonoides, taninos) (Cardozo Junior & Morand, 2016).

Estos compuestos bioactivos naturales se han aplicado con frecuencia en la industria alimentaria para preservar la calidad y seguridad de los productos alimenticios (Ozdemir *et al.*, 2018).

### **2.1.1. Compuestos polifenólicos**

Los metabolitos secundarios de plantas que presentan en su estructura química al menos un anillo aromático al que se une uno o más grupos hidroxilos son llamados compuestos polifenólicos, los que se clasifican como ácidos fenólicos, flavonoides y taninos (Mercado-Mercado *et al.*, 2013).

Se han detectado 28 compuestos fenólicos diferentes en extractos de yerba mate, la mayoría compuestos por el grupo de ácidos hidoxicinámicos, principalmente derivados de ácidos hidroximanoilquínicos (Escalada *et al.*, 2011).

Los niveles de polifenoles en extractos de yerba mate son mayores que los que se encuentran en el té verde y son similares a los encontrados en el vino tinto (Ferreira Cuelho *et al.*, 2015). Asimismo han demostrado ser ricos en ácidos clorogénicos y pobres en catequinas (Burriss *et al.*, 2012). Los principales compuestos fenólicos encontrados en los extractos acuosos y etanólicos de yerba mate verde brasileña fueron: ácido cafeico, ácido quínico, cafeoil glucosa, ácidos cafeoilquínicos, ácido feruloilquínico, ácido dicafeoilquínico y rutina. Luego

del tostado se forman otros dos compuestos: ácido cafeoilshikímico y ácido dicafeoilshikímico (Peres *et al.*, 2013).

### **2.1.2. Metilxantinas**

Las xantinas son alcaloides purínicos presentes en diversas plantas. Existen tres tipos en la yerba mate: la cafeína, la teobromina y la teofilina, las cuales aportan a la yerba mate el efecto estimulante (Burriss *et al.*, 2012) el cual se debe precisamente a la presencia de metilxantinas (cafeína y teobromina) (Blum-Silva *et al.*, 2015).

La cafeína se encuentra presente en concentraciones más elevadas, entre 0,7 y 3 % del peso seco total, mientras que, la teobromina se halla en cantidades entre 0,07-0,9 % (Burriss *et al.*, 2012).

### **2.1.3. Saponinas**

Los beneficios que otorgan las saponinas son: efectos hipocolesterolémico, anticancerígeno, antiparasitario y antiinflamatorio (Burriss *et al.*, 2012). Estos compuestos se unen a sales biliares y tienen alto potencial de formación de espuma, carácter no iónico y baja toxicidad para la piel siendo un agente espumante alternativo prometedor de origen natural y renovable (Ferreira Cuelho *et al.*, 2015)

Se los considera como los compuestos responsables del sabor amargo de la yerba mate y son empleadas en la industria como aditivo para alimentos y para cosméticos, siendo además potenciales para otras aplicaciones industriales como conservantes y modificadores de sabor (Nunes & Ragagnin De Menezes, 2015).

## **2.2. Propiedades biológicas**

Actualmente la demanda de alimentos que contienen biológicamente sustancias activas ha aumentado, teniendo en cuenta que los consumidores están buscando productos más saludable; la yerba mate encaja en este contexto, debido a los numerosos beneficios para la salud que proporciona, como actividad hipocolesterolemia y hepatoprotectora así también brinda una estimulación del sistema nervioso central y una acción diurética, con una actividad

antioxidante, previniendo los daños causados por radicales libres por lo tanto la yerba mate es uno que cuenta con la mayor capacidad antioxidante (Piovezan-Borges *et al.*, 2016).

### **2.2.1. Acción antioxidante**

Actualmente existe un creciente interés en el estudio de los polifenoles, ya que muchos de ellos son considerados antioxidantes potentes, por lo tanto, siendo muy utilizados como conservantes en la industria alimenticia; a su vez, se ha demostrado que poseen importancia nutricional ya que pueden prevenir o reparar el daño causado por el oxígeno a las células de los tejidos vivos (Escalada *et al.*, 2011).

La yerba mate es capaz de proteger contra el efecto nocivo de los radicales libres, activando de esta manera el sistema inmune del organismo. Esta actividad antioxidante es atribuida principalmente a la presencia de compuestos polifenólicos, que deslocalizan electrones y forman enlaces de hidrógeno intramoleculares. Estos compuestos también inhiben las reacciones en cadena y reparan las lesiones causadas por especies reactivas (Colpo *et al.*, 2016).

El extracto de hojas de yerba rico en ácidos fenólicos ha demostrado tener actividad antioxidante *in vitro* e *in vivo* además de propiedades farmacológicas ya mencionadas. Así también, el extracto de esta planta se investigó como un potencial agente antioxidante en los productos alimenticios (Beal *et al.*, 2011). Racanicci *et al.*, (2008) comprobaron que la adición de un extracto acuoso de hojas de mate (0.05 y 0.10%) a las bolas de carne de pollo disminuyó la peroxidación lipídica, medida por el ensayo TBARS y el agotamiento de la vitamina E.

En otro estudio realizado por Beal *et al.*, (2011) demostró la acción antioxidante del extracto de yerba mate en salchichas tipo italiano indicaron en donde la formulación con 0,4% p/p presentó sustancias reactivas con ácido tiobarbitúrico y valores de carbonilo inferiores en comparación con el control.

### **2.2.2. Acción antimicrobiana**

La aplicación de la yerba mate como agente antimicrobiano en los alimentos y en la protección de cultivos es un concepto relativamente reciente, que aún no ha sido estudiado y revisado completamente. Se ha comprobado que extractos brutos como el té (infusión) y compuestos derivados de yerba mate, presentan un espectro de inhibición amplio contra

bacterias Gram positivas y Gram negativas. Aún no se han verificado completamente los compuestos responsables de dicha actividad antimicrobiana que presenta la yerba mate, ni los efectos sinérgicos o antagónicos que puedan tener. Los posibles compuestos que pueden contribuir a la actividad antimicrobiana son los ácidos cafeico y clorogénico, que actúan sobre bacterias Gram negativas; y el kaempferol y la quercetina que son flavonoles capaces de inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus* (Burris *et al.*, 2012).

Los diez principales compuestos identificados como componentes antimicrobianos potenciales son: linalol,  $\alpha$ -ionona,  $\beta$ -ionona,  $\alpha$ -terpineol, ácido octanoico, geraniol, 1-octanol, nerolidol, geranilactona y eugenol, que han demostrado ser activos contra un amplio espectro de bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas. Los compuestos polifenólicos presentes en yerba mate incluyen el ácido cafeico, la cafeína, los derivados de cafeoil, el ácido cafeoilshikímico, el ácido clorogénico, el ácido feruloilquínico, el kaempferol, la quercetina, el ácido quínico, la rutina y la teobromina, los cuales contribuyen a la actividad antimicrobiana contra patógenos transmitidos por alimentos (Burris *et al.*, 2012).

### 3. ALIMENTOS FUNCIONALES

Los alimentos funcionales son aquellos que contienen componentes biológicamente activos que desempeñan una función específica y positiva en las funciones fisiológicas del organismo humano (Fuentes-Berrio *et al.*, 2015). De esta manera, los alimentos funcionales pueden contribuir al bienestar, la mantención de la salud y a la disminución del riesgo de sufrir ciertas enfermedades (Olagnero *et al.*, 2007). Actualmente, los alimentos funcionales están evolucionando como una estrategia potencial en la prevención de enfermedades crónicas y a su vez, presentando un contenido mayor de nutrientes atrayendo la atención de los consumidores (Fuentes-Berrio *et al.*, 2015)

La yerba mate es considerada como un alimento funcional, puesto que presenta propiedades nutricionales y medicinales, tales como propiedades hipocolesterolémica, hepatoprotectora, diurética, antioxidante y antimicrobiana. Además, previene la aterosclerosis y las enfermedades cardiovasculares. Dichos beneficios para la salud se han atribuido a los compuestos fenólicos presentes en su composición, (Blum-Silva *et al.*, 2015). Varios trabajos de investigación han demostrado científicamente que la yerba mate contiene propiedades que producen efectos farmacológicos importantes, tales como efectos cardioprotectores, inhibición de la proliferación de células cancerosas, y efectos antiobesidad (Negrão-Murakami *et al.*, 2016).

En la industria alimentaria, el empleo de extracto de yerba mate se ha explorado para la protección de la oxidación de lípidos y la rancidez, debido a la presencia de compuestos fenólicos en la yerba mate (Racan Ricci *et al.*, 2008). Si bien, aún existen pocos estudios que han evaluado la posible utilización del extracto de *Ilex paraguariensis* para su uso como conservante de alimentos (Burriss *et al.*, 2012).

Se han llevado a cabo varias investigaciones en las cuales se utilizaron extractos vegetales en mayonesa buscando una alternativa a los antioxidantes químicos y de ésta manera evitar el riesgo que conlleva la ingesta de éstos en altas concentraciones (Martínez-Tomé *et al.*, 2001; Beal *et al.*, 2011). Entre los estudios realizados podemos mencionar el realizado por Rasmy *et al.*, (2012) concluyó que el extracto de etanol de salvia podría usarse como antioxidante natural en la industria alimentaria ya que comprobó que las mayonesas que se formularon con la adición del extracto obtuvieron valores de peróxido muchos más bajos en comparación con la mayonesa formulada con BHA como antioxidante y la muestra control.

Asimismo Kishk & Elsheshetawy, (2013) estudiaron el efecto del jengibre en polvo sobre la estabilidad oxidativa de la mayonesa y demostraron que durante veinte semanas de almacenamiento se redujo significativamente el proceso de oxidación y la formación de productos de oxidación secundaria en dichas mayonesas en comparación con la muestra control y además, la adición de jengibre a la mayonesa mejoró significativamente los atributos sensoriales de la misma.

García *et al.*, (2014) sugieren al quitosano como un posible antioxidante natural en la formulación de mayonesas, debido a que su incorporación en la formulación de este producto redujo la oxidación de los lípidos de las mayonesas durante 63 días a 37°C; 47 y 57°C, obteniendo a su vez mayores puntuaciones por los atributos de olor y sabor típicos con respecto al control de la mayonesa.

También se ha utilizado el extracto de la cáscara del maíz morado en la formulación de mayonesa en donde se obtuvo un mayor efecto antioxidante que en la mayonesa con antioxidantes químicos (BHT, EDTA) durante el tiempo de almacenamiento de 10 semanas (Chun-Ying *et al.*, 2014).

Ozdemir *et al.*, (2018) indicaron que los valores de peróxido de las mayonesas preparadas mediante la adición de aceite de comino negro prensado en frío fueron más bajos que los del grupo de control durante un tiempo de almacenamiento de 4 semanas a 20°C. Por otra parte, la aceptabilidad general de la mayonesa con el extracto, en el análisis sensorial, fue mayor que la

de la mayonesa control; demostrando de esta manera que el uso de aceite de comino negro en mayonesa mejoró su estabilidad oxidativa y su sabor.



# CAPÍTULO II

METODOLOGÍA



## 1. PROPUESTA METODOLÓGICA

El presente trabajo de tesis fue realizado en dos etapas: etapa de ensayos preliminares y estudio de la estabilidad oxidativa de mayonesas formuladas utilizando extractos de yerba mate como antioxidante natural.

### 1.1.Etapa 1. Ensayos preliminares

Los ensayos preliminares consistieron en la evaluación del deterioro oxidativo, la estabilidad física y el aspecto macroscópico de mayonesas elaboradas en base a fórmulas habitualmente reportadas en las bibliografías (Borda, 2011; Altunkaya *et al.*, 2013; Kwon *et al.*, 2015), ensayando diferentes concentraciones de extracto de yerba mate.

Durante la etapa de ensayos preliminares se estudió la estabilidad fisicoquímica de 5 tipos de mayonesas formuladas utilizando como ingredientes comunes aceite, yema de huevo en polvo, vinagre, azúcar, sal, agua, y agente antioxidante, aunque sin el agregado de ningún tipo de estabilizante.

Las diferentes fórmulas se distinguieron por el contenido y tipo de antioxidante utilizado, a saber: 1) sin antioxidante (control); 2) BHT a una concentración 0,02 % p/p (BHT); 3) extracto acuoso de yerba mate a una concentración 0,0002 % p/p (YM1); 4) extracto acuoso de yerba mate a una concentración 0,2 % p/p (YM2); 5) extracto acuoso de yerba mate a una concentración 0,4 % p/p (YM3). Las formulaciones completas de esta etapa se detallan en la tabla 1.

La estabilidad fisicoquímica se evaluó mediante una prueba acelerada, que consiste en incubar el alimento bajo condiciones controladas y a temperaturas mayores a las de almacenamiento y las de comercialización, para permitir que las reacciones de deterioro se aceleren y se obtengan valores en períodos más cortos (García Baldizón & Molina Córdoba, 2008). En esta prueba se trabajó durante 30 días a 35°C empleando el índice de peróxido, índice de acidez e índice de Kreis como indicadores de deterioro de origen oxidativo e inspección visual en busca de signos macroscópicos de inestabilidad física (separación de fases).

**Tabla 1. Formulaciones de las mayonesas - Ensayos preliminares.**

<b>INGREDIENTES</b>	<b>Control</b>	<b>BHT</b>	<b>YM1</b>	<b>YM2</b>	<b>YM3</b>
<b>Aceite</b>	78%	78%	78%	78%	78%
<b>Agua</b>	9,8%	9,78%	9,6%	9,6%	9,4%
<b>Yema de huevo</b>	7%	7%	7%	7%	7%
<b>Vinagre</b>	2,2%	2,2%	2,2%	2,2%	2,2%
<b>Azúcar</b>	2%	2%	2%	2%	2%
<b>Sal</b>	1%	1%	1%	1%	1%
<b>Ext. Yerba Mate</b>	-	-	2x10 <sup>-4</sup> %	0,2%	0,4%
<b>BHT</b>	-	0,02%	-	-	-

(*Control*, mayonesa sin el agregado de antioxidantes; *BHT*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM1*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,0002% p/p de concentración; *YM2*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,2% p/p de concentración; *YM3*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración).

### **1.2.Etapa 2. Estudio de la estabilidad oxidativa, color y análisis sensorial de mayonesas formuladas utilizando extracto de yerba mate como antioxidante natural.**

Los ensayos preliminares mostraron que debían realizarse ciertas modificaciones a la fórmula utilizada en la elaboración de las mayonesas. En primer lugar, la inestabilidad física manifestada por la coalescencia (separación de fases) de las muestras en etapas tempranas de la prueba indicó la necesidad de la incorporación algún agente estabilizante. En segundo lugar, tras observar que las muestras de mayonesa preparadas con extracto de yerba mate no presentaban características sensoriales inaceptables (color, olor ni sabores que pudieran resultar desagradables), y teniendo en cuenta que no existen reglamentaciones sobre límites máximos permitidos para los antioxidantes de origen natural en productos alimenticios, durante la segunda etapa del trabajo, se decidió formular mayonesas utilizando concentraciones mayores del extracto de *Ilex paraguariensis* como agente antioxidante.

Para el estudio de la estabilidad fisicoquímica se elaboraron 3 tipos de mayonesas utilizando como ingredientes aceite, yema de huevo en polvo, vinagre, azúcar, sal, agua, goma

guar y goma xantan (estabilizantes) y diferentes concentraciones de antioxidantes (BHT y extracto acuoso de yerba mate). El estudio de estabilidad fisicoquímica se realizó mediante una prueba acelerada (almacenamiento de las muestras de mayonesas a 35°C durante 45 días), empleando a los índices de peróxido, de acidez y de Kreis como indicadores de deterioro oxidativo. Asimismo, se analizaron los parámetros de color *L*, *a* y *b* durante el almacenamiento y se realizaron pruebas para evaluar las diferencias sensoriales del nuevo producto respecto a las marcas de mayonesas más vendidas en el mercado (test del triángulo) y la aceptabilidad del mismo mediante una prueba hedónica.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1. Obtención de muestras de mayonesa**

Las mayonesas fueron preparadas en base a la fórmula utilizada por Kwon *et al.* (2015): aceite de girasol sin el agregado de antioxidantes obtenido directamente de la industria Conti Paraguay (64,5% p/p), agua (22,3-23,08% p/p), yema de huevo pasteurizado (Unpar, Paraguay) (7% p/p), vinagre (Alcazar, Paraguay) (2,2% p/p), azúcar (Azpa, Paraguay) (2% p/p), sal fina yodada (Primicia, Paraguay) (1% p/p).

El antioxidante comercial seleccionado para la elaboración del producto de estudio fue el BHT, utilizado con frecuencia en la industria alimentaria, sobre todo en mayonesas. Por consiguiente, la cantidad del antioxidante empleada en este trabajo es la usada comúnmente en las mayonesas comerciales (Chun-Ying *et al.* 2014). En base a la capacidad antioxidante del extracto de yerba mate y BHT se realizaron diluciones (1:1000) del extracto para igualar las concentraciones iniciales de ambos.

El extracto acuoso de yerba mate utilizado fue obtenido a nivel industrial y proveído por la empresa “La Cachuera” de la ciudad de Apóstoles (Misiones, Argentina).

Ésta es la presentación comercial en la que el extracto de yerba mate se encuentra disponible. Industrialmente es obtenido a partir de una extracción de los componentes solubles de yerba mate elaborada utilizando agua a 80°C, seguido de evaporación hasta completar una concentración (volumen) de 25% de sólidos solubles (25 g sólidos solubles/100 g solución).

Se obtuvieron 3 tipos de mayonesa, a saber: 1) mayonesa con BHT a una concentración 0,02% p/p (control); 2) mayonesa con extracto acuoso de yerba mate a una concentración de 0,4% p/p (YM4) y 3) mayonesa con extracto acuoso de yerba mate a una concentración de 0,8% p/p (YM5).

También se incorporó a las formulaciones de mayonesa gomas como estabilizantes: la goma guar y la goma xántica (ambas de copalsa) en concentraciones de 0,1% p/p cada una, teniendo en cuenta que según los estudios realizados por (Borda, 2011) ésta combinación de estabilizantes presenta mejores resultados frente a la separación de las fases en emulsiones.

En primer lugar se mezclaron todos los ingredientes en una batidora (Arno) a excepción del aceite que se fue incorporando lentamente a los demás ingredientes. Se pesaron las cantidades de ingredientes necesarios para obtener muestras de mayonesa de 750 g aproximadamente por cada formulación. Una vez lista la mayonesa, la misma fue fraccionada obteniéndose 6 porciones de 125 g. Las diferentes porciones se colocaron en frascos estériles correctamente rotulados, que fueron cerrados herméticamente y almacenados en las condiciones del ensayo hasta su análisis. Los rótulos de los frascos indicaban el día del análisis (día 0, 5, 15, 25, 35 y 45).

Los frascos de mayonesa fueron almacenados a 35° C en una cámara de cultivo (ST automática) a fin de realizar una prueba acelerada de la vida útil oxidativa durante 45 días. (García *et al.*, 2014).

En las tablas 2 se presentan las fórmulas utilizadas en la preparación de las muestras de mayonesa ensayadas.

**Tabla 2. Fórmulas de las muestras de mayonesa.**

<b>INGREDIENTES</b>	<b>Control con BHT</b>	<b>YM4</b>	<b>YM5</b>
<b>Aceite</b>	64,5%	64,5%	64,5%
<b>Agua</b>	23,08%	22,7%	22,3%
<b>Yema de huevo</b>	7%	7%	7%
<b>Vinagre</b>	2,2%	2,2%	2,2%
<b>Azúcar</b>	2%	2%	2%
<b>Sal</b>	1%	1%	1%
<b>Goma guar</b>	0,1%	0,1%	0,1%
<b>Goma xantán</b>	0,1%	0,1%	0,1%
<b>Ext. Yerba Mate</b>	-	0,4%	0,8%
<b>BHT</b>	0,02%	-	-

(Control con BHT, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; YM4, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración; YM5, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).

## **2.2. Estudio de las propiedades funcionales del extracto de yerba mate**

El extracto acuoso de *Ilex paraguariensis* fue analizado para conocer su contenido de polifenoles totales (método de Folin-Ciocalteu) y su capacidad antioxidante (ensayo del radical libre DPPH●).

### **2.2.1. Contenido de polifenoles totales**

El ensayo espectrofotométrico desarrollado por Folin-Ciocalteu (FC) es utilizado para la determinación del contenido de polifenoles totales en diversos alimentos (Roginsky & Lissi, 2005). Se basa en una reacción de transferencia electrónica en la cual el reactivo (oxidante)

extrae un electrón del antioxidante presente en la muestra de ensayo, generando un cambio de color. El punto final de la reacción se alcanza cuando el cambio de color se detiene. El cambio de absorbancia se representa frente a diferentes concentraciones de una sustancia antioxidante patrón (en este caso, ácido gálico) para dar una curva lineal. La pendiente de la curva refleja la capacidad reductora del antioxidante patrón, y esto permite calcular la capacidad reductora de la muestra, proporcional al contenido de compuestos fenólicos totales, expresada como equivalentes de ácido gálico (EAG) (Huang *et al.*, 2005).

### **2.2.1.1.Reactivos**

Los reactivos utilizados fueron: metanol (Merck, Argentina), ácido gálico (MP Biomedicals, Argentina), reactivo de Folin-Ciocalteu (Fluka, Argentina) y carbonato de calcio (Anedra, Argentina).

### **2.2.1.2.Preparación de soluciones patrón**

Para la preparación de las soluciones patrón utilizadas en la construcción de la curva de calibración (anexo A), se disolvieron 0,11 g de ácido gálico en 100 mL de agua destilada, obteniendo así una solución de ácido gálico de concentración de 1.000 µg/mL. Luego, se transfirieron alícuotas de 1, 2, 3, 4 y 5 mL de esta solución a matraces aforados de 100 mL y los mismos fueron enrasados con agua destilada, obteniéndose así soluciones patrón de ácido gálico con las respectivas concentraciones nominales (10, 20, 30, 40 y 50 µg/mL).

### **2.2.1.3.Procedimiento**

El contenido de polifenoles totales se determinó por duplicado mediante el método espectrofotométrico de FC y se expresó como g de polifenoles totales equivalentes a ácido gálico (EAG) en 100 g de materia seca, según lo descrito en la norma ISO/FDIS 14502-1(E) (2004).

Para ello, 1 mL (DILUCIÓN 1:50 y 1:100) del extracto de yerba mate obtenido fue diluido (1:100) con agua destilada. Luego, 1 mL del extracto de té diluido 1:100 fue mezclado con 5 mL del reactivo de FC 1:10 v/v y transcurridos entre 3 a 8 min se agregaron 4 mL de una solución de carbonato de calcio 7,5% p/v. La mezcla fue homogeneizada y luego incubada durante 1 h a temperatura ambiente y protegida de la luz. Como blanco de reactivos se reemplazó 1 mL del extracto de té diluido por 1 mL de agua destilada.

La curva de calibración se preparó con las soluciones patrón de ácido gálico (10, 20, 30, 40 y 50 µg/mL).

Las lecturas de absorbancia se realizaron a 765 nm en un espectrofotómetro UV/Vis (Espectro SP- 21029) calibrado con agua, usando una cubeta de cuarzo de 1 cm de camino óptico.

El contenido de polifenoles totales (g EAG/ 100 g materia seca) fue calculado según la siguiente fórmula:

$$CPT = \frac{(A_m - A_{intercepto}) \cdot V_m \cdot d \cdot 100}{a \cdot m \cdot 10.000 \cdot RS}$$

siendo:

$A_m$ , la absorbancia a 765 nm de la muestra.

$A_{intercepto}$ , la absorbancia observada en el punto donde la curva de calibración intercepta el eje y.

$V_m$ , el volumen de extracción de la muestra (10 mL).

$d$ , factor de dilución utilizado.

$a$ , es la pendiente de la curva de calibración.

$m$ , es la masa, en gramos, de la porción de ensayo.

$RS$ , contenido de materia seca, en porcentaje en masa de la muestra.

## 2.2.2. Capacidad de captación del radical libre DPPH•

Uno de los métodos más utilizados para verificar la capacidad antioxidante de los alimentos es evaluar la capacidad de captación del radical libre 2,2-Difenil-1-picrilhidracilo (DPPH•) (Saito *et al.*, 2007; Hartwig *et al.*, 2012; Jayasekera *et al.*, 2011).

### 2.2.2.1. Reactivos

Los reactivos utilizados fueron: metanol (Merck, Argentina), DPPH• (radical libre 2,2-Difenil-1-picrilhidracilo, Sigma, Argentina) y ácido ascórbico (Sigma Ultra, Argentina).

### 2.2.2.2.Preparación de las soluciones patrón

Para la construcción de la curva de calibración (anexo B), se prepararon soluciones patrón de ácido ascórbico de concentraciones nominales de 100, 120, 140, 160, 180, 200 y 220 µg/mL. Para ello, se disolvieron 0,25 g de ácido ascórbico en 250 mL de agua destilada obteniendo una solución estándar de ácido ascórbico de concentración 1.000 µg/mL. Luego, diferentes volúmenes de la solución estándar fueron transferidos a matraces aforados de 100 mL de capacidad. Cada matraz aforado fue enrasado con agua destilada, obteniéndose así las soluciones patrón de diferentes concentraciones de ácido ascórbico (Hartwig *et al.*, 2012).

### 2.2.2.3.Procedimiento

La capacidad antioxidante del extracto de yerba mate se determinó por duplicado mediante el ensayo espectrofotométrico del radical libre DPPH•, usando ácido ascórbico como estándar.

Para ello, 1mL (DOS DILUCIONES 1:50 Y 1:100) del extracto de yerba mate fue diluido con agua destilada. Luego, se mezclaron 100 µL del extracto de té diluido con 3 mL de una solución metanólica de DPPH (100 µL/L) en un frasco de reacción color caramelo. Los frascos de reacción se incubaron protegidos de la luz en una estufa a 37 °C durante 2 h. Para la lectura del blanco de reactivos, se procedió según lo descrito en este ítem, pero reemplazando la alícuota de la muestra por metanol (Hartwig *et al.*, 2012).

Para la realización de la curva de calibración del estándar ácido ascórbico se mezclaron 100 µL de cada una de las soluciones patrón, con 3mL de la solución metanólica de DPPH 100 µM en un frasco de reacción color caramelo, la mezcla fue homogeneizada y la absorbancia fue leída inmediatamente.

Las lecturas de absorbancia se realizaron a 517 nm en un espectrofotómetro UV/Vis (Espectro SP- 21029, China) calibrado con metanol, usando una cubeta de cuarzo de 1 cm de camino óptico.

Los resultados se expresaron como g equivalentes a ácido ascórbico (EAA) por cada 100 g de materia seca y se calcularon a partir del porcentaje de radical DPPH remanente en el equilibrio ( $\% \text{ DPPH}_R = \text{DPPH}_{ee} * 100 / \text{DPPH}_0$ , donde  $\text{DPPH}_{ee}$  es la absorbancia de la muestra en el estado estable y  $\text{DPPH}_0$  es la absorbancia de la solución del radical DPPH 100 µM). Para cada concentración de ácido ascórbico ensayada, se graficó  $\% \text{ DPPH}_R$ , obteniéndose así la curva de calibración.

La capacidad antioxidante (g EAA/100 g de materia seca) fue calculada según la siguiente fórmula:

$$CAO = \frac{(\% DPPH_R - b) \cdot d \cdot V_m}{a \cdot m \cdot RS \cdot 100}$$

siendo:

$\% DPPH_R$ , porcentaje remanente del radical DPPH en el equilibrio ( $\% DPPH_R = DPPH_{ee} \cdot 100 / DPPH_0$ , donde  $DPPH_{ee}$  es la absorbancia de la muestra en el estado estable y  $DPPH_0$  es la absorbancia de la solución del radical DPPH 100  $\mu$ M).

$b$ , ordenada al origen de la curva de calibración.

$d$ , factor de dilución utilizado

$V_m$ , el volumen de extracción de la muestra (10 mL).

$a$ , la pendiente de la curva de calibración.

$m$ , es la masa, en gramos, de la porción de ensayo.

$RS$ , contenido de materia seca, en porcentaje en masa de la muestra.

### **2.3. Estudio de la estabilidad oxidativa de la mayonesa durante su almacenamiento.**

Ciertos alimentos presentan un alto contenido de lípidos que le confieren varias propiedades organolépticas y nutritivas, por esta razón es importante controlar su estado oxidativo y para su estudio es necesario extraerlos del alimento. Para el método de extracción utilizado en la presente investigación (Bligh & Dyer) se requiere conocer primeramente el contenido de humedad del alimento en cuestión.

#### **2.3.1. Determinación de humedad - Método de destilación directa**

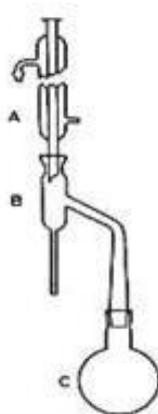
El método de destilación directa (Dean & Stark, 1920) o destilación azeotrópica es un método volumétrico, directo, y fácil que se utiliza para determinar el contenido de agua liberado de la muestra (Veillet *et al.*, 2009), mediante la destilación a reflujo del alimento con un líquido inmiscible con el agua, menos denso que ella y con un punto de ebullición más elevado.

##### **2.3.1.1. Reactivo**

El reactivo utilizado para la determinación de humedad fue el tolueno p.a.

### 2.3.1.2. Procedimiento

En primer lugar se limpió cuidadosamente el aparato con mezcla sulfocrómica, se enjuagó y se secó. Se pesaron 10 g de mayonesa en el matraz seco, se llenó hasta la mitad con tolueno y se ensamblaron el refrigerante A y el colector B. Seguidamente se hirvió el líquido calentado el matraz con una manta eléctrica hasta que ya no aumentó el volumen de agua separada en el colector. Posteriormente se midió el volumen total de agua en la parte graduada. Los resultados se expresan en la siguiente ecuación.



**Figura 1. Trampa de Dean Stark para la determinación de humedad en alimentos por destilación directa.**

$$\text{Agua en la muestra (\%)} = \frac{100.V}{W}$$

siendo:

V= volumen total de agua

W=Peso de muestra

### 2.3.2. Extracción de la grasa por el método de Bligh & Dyer (1959)

El método de Bligh & Dyer, (1959) es un método para la extracción de lípidos de productos alimenticios que contienen una cantidad significativa de agua y se basa en la homogeneización de estos alimentos en una mezcla de metanol y cloroformo en proporciones tales que forman una fase miscible con el agua del alimento. La dilución posteriormente se separa en dos fases, con la presencia de los materiales lípidos en la capa de cloroformo, mientras que en la capa metanólica se encuentran los no lipídicos.

### **2.3.2.1.Reactivos**

Los reactivos utilizados fueron: metanol p.a., cloroformo p.a., hidróxido de potasio p.a., éter de petróleo.

### **2.3.2.2.Procedimiento**

Luego de medir la humedad se homogeneizó la mayonesa y se pesó 40 g de muestra. Se agregó un volumen calculado de agua desionizada en tal cantidad que el total de agua presente sea 16 mL., 80 mL de metanol y 72 mL de cloroformo y se dejó reposar en embudos de decantación 3 a 4 horas hasta una separación completa de las fases.

En un cristizador previamente pesado se colocó el líquido decantado (cloroformo y aceite) y se llevó a una estufa (ST automática) a una temperatura de 50°C para no oxidar el aceite, por un periodo de 10 horas a fin de evaporar el cloroformo existente en la muestra.

Una vez evaporado el cloroformo en su totalidad, la muestra de aceite fue retirada de la estufa estando lista para iniciar los ensayos de estabilidad oxidativa.

### **2.3.3. Índice de acidez**

De acuerdo con la Farmacopea Argentina (2013), el índice de acidez es la cantidad de mg de hidróxido de potasio necesaria para neutralizar los ácidos libres presentes en 1,0 g de muestra. Esta técnica determina el estado de conservación de un producto alimenticio, cuyo principio se basa en la disolución de la muestra en una mezcla de solventes adecuada, en donde los ácidos presentes se titulan con una solución etanólica y metanólica de potasio o hidróxido de sodio.

#### **2.3.3.1.Reactivos:**

- Solución de etanol y éter sulfúrico (96%) neutralizada hasta viraje de la fenolftaleína, con NaOH diluido.
- NaOH 0,1N (valorado).
- Solución de fenolftaleína al 1%.

### **2.3.3.2.Procedimiento:**

Se pesaron 5g de muestra en un erlenmeyer y se disolvió con 60 mL de alcohol 96%. Se tituló con solución de NaOH de concentración 0,01 N o 0,1 N dependiendo de la acidez esperada en constante agitación.

### **2.3.4. Índice de peróxido**

La oxidación de los ácidos grasos insaturados es el deterioro más común de los aceites, que se lleva a cabo cuando un átomo cede un electrón a otro átomo distinto, generando de esta manera compuestos que mantienen y acelera la reacción (hidroperóxidos), sintetizando posteriormente sustancias que producen mal olor (aldehídos, cetonas, ácidos alcoholes) (Badui Dergal, 2006).

El método indica en que extensión ha sufrido el aceite la autooxidación, es decir, se utiliza para medir productos de oxidación iniciales e intermedios (hidroperóxidos), que miden el grado de envejecimiento de los aceites esenciales. (McClements & Decker, 2000).

El índice peróxido depende mucho del momento en que se determina, ya que en la segunda etapa los peróxidos se oxidan formando otros compuestos; por esta razón los se deben realizar a su vez otras determinaciones como ser el índice de acidez, para determinar el grado de oxidación de los aceites (Badui Dergal, 2006).

#### **2.3.4.1.Reactivos:**

- Disolvente: cloroformo-acético: se mezclaron 3 volúmenes de ácido acético y uno de cloroformo.
- Solución recientemente preparada de KI a saturación (aprox. 10g/6mL agua): se controló añadiendo 2 gotas de una solución al 1% de almidón soluble. Descartar si adquiere color azul y necesita más de una gota de  $S_2O_3Na_2$  0,1N para decolorarla.
- Soluciones patrón de  $S_2O_3Na_2$  0,1N y 0,01N. Se preparó esta última inmediatamente antes de usarla, por dilución de la primera con agua destilada recientemente hervida.

#### **2.3.4.2.Procedimiento:**

Se pesaron  $5 \text{ g} \pm 50 \text{ mg}$  de aceite en un erlenmeyer de 250 mL con tapón esmerilado. Se añadió 30 mL del disolvente de cloroformo-acético y se agitó por rotación para disolver la muestra. Seguidamente se añadió 0,5 mL de la solución de KI con una pipeta de doble aforo o

automática, se esperó 1 minuto agitando de vez en cuando y se añadió unos 30 mL de agua destilada y 0,5 mL de solución de almidón soluble al 1%. Se tituló el yodo liberado con  $S_2O_3Na_2$  0,1N dejando caer esta solución gota a gota mientras se agitaba vigorosamente hasta que desapareció el color azul. En caso de que reapareciera el color azul antes del minuto, se continuó con la titulación hasta que la coloración vuelva a desaparecer.

Se hizo una determinación en blanco solamente con los reactivos. El título del blanco no debía ser mayor que 0,5 mL de  $S_2O_3Na_2$  0,1N.

### **2.3.5. Índice de Kreis**

El índice de Kreis, considerada una de las pruebas más antiguas para la valoración del estado de oxidación de las grasas, consiste principalmente en la evaluación cualitativa de la rancidez y se basa en la reacción extremadamente sensible de la floroglucina presente en medio ácido con las grasas oxidadas, produciendo a causa de esto, una coloración roja, cuya intensidad es proporcional al grado de rancidez de la muestra, debido probablemente a la presencia de aldehído malónico o de aldehído epidrínico (Holm & Greenbank, 1923; Fennema, 2010).

#### **2.3.5.1.Reactivos:**

Los reactivos utilizados fueron HCl concentrado y solución al 1% de floroglucina en éter etílico.

#### **2.3.5.2.Procedimiento:**

En un tubo de ensayo provisto de tapa, se introdujo 0,9 g de aceite y 1 mL de HCl concentrado; se tapó y agitó vigorosamente durante 20 segundos. Luego se agregó 1 mL de solución de floroglucina y nuevamente se tapó y agitó 20 segundos. A los 10 minutos se observó la coloración.

Si la grasa o el aceite está rancio, la capa inferior (ácida) toma un color rosa, violáceo o rojo (descartar colores amarillos o naranjas); en este caso se completa el ensayo con la modificación de Kerr: hacer 2 diluciones del aceite original: a) un volumen de muestra + 9 volúmenes de vaselina líquida; b) un volumen de muestra + 19 volúmenes de vaselina líquida; y preceder con 1 mL de cada dilución tal como se detalló anteriormente.

Si la muestra no presenta color: indica que no hay rancidez.

La reacción positiva en la muestra sin diluir y negativa en a) y b): indica que no hay rancidez suficiente como para producir cambios en el color y sabor, pero que pronto se producirán estos cambios.

La reacción positiva en el ensayo a) pero negativa en el b) indica rancidez incipiente, acompañada de cambios ya perceptibles en el olor y sabor.

Mientras que la reacción positiva en la dilución b): significa rancidez definida.

#### **2.4. Evaluación de parámetros de color ( $L$ , $a$ y $b$ ) de la mayonesa durante su almacenamiento**

El color en los alimentos es la primera impresión más importante de calidad y aceptabilidad por parte del consumidor, además, en ocasiones permite detectar ciertas anomalías y defectos.

Varias pruebas han demostrado que cuando el alimento presenta un color poco usual o desagradable para el consumidor, incluso cuando la forma, aroma, entre otras características sensoriales se mantienen iguales, genera un rechazo inmediato (Álvarez Lara, 2011).

Por este motivo, es necesario controlar este atributo y describirlo con parámetros físicos cuantificables, tanto así que en las industrias de alimentos la medición instrumental del color sirve como herramienta de control de calidad (Mathias-Rettig & Ah-Hen, 2014).

En este estudio el color se midió con un medidor Color Hunter Lab MiniScan EZ (Hunter Associates Laboratory), en una escala de color HunterLab ( $L$ ,  $a$  y  $b$ ), con ángulo de observador de  $10^\circ$ .

El parámetro  $L$  mide la luminosidad, claridad o visibilidad del color (grado de blancura) y la cromaticidad se evalúa por los parámetros  $a$  y  $b$ . El parámetro  $L$  oscila entre 0 (negro) y 100 (blanco perfecto). El parámetro  $a$  mide el componente rojo del color en el eje positivo y el componente verde en el eje negativo. El parámetro  $b$  mide la posición del color entre el amarillo y azul (valores negativos de  $b$  indican azul, mientras que valores positivos indican amarillo). Ambos parámetros  $a$  y  $b$  adoptan el valor 0 para los grises (Mathias-Rettig & Ah-Hen, 2014).

La muestra fue colocada en un contenedor de vidrio tipo placa de Petri y cubierta con un film protector. El valor de los parámetros dados corresponde al valor medio dado por el equipo, que realiza 12 mediciones en diferentes puntos de la muestra.

## **2.5.Estabilidad física**

Según el Código Alimentario Argentino (2018) la mayonesa debe tener una consistencia semisólida, textura lisa y uniforme por lo que se procedió a evaluar los caracteres macroscópicos a ojo descubierto, durante los días de almacenamiento, con el fin de percibir signos de desestabilización como ser la separación de las fases.

## **2.6.Evaluación sensorial de la mayonesa**

Los métodos de evaluación sensorial son indispensables en el control de la calidad de los alimentos (Rondon *et al.*, 2004), por ello es importante destacar, que si bien existen investigaciones publicadas con respecto al uso del extracto de yerba mate como antioxidante natural en alimentos, no se cuenta con muchos datos acerca de la evaluación sensorial del producto terminado. Se debe tener en cuenta que un parámetro fundamental es la aceptación del producto para comprobar si en realidad es viable reemplazar un antioxidante sintético por uno natural a la hora de elaborar nuevos productos alimenticios.

Para la obtención de datos en este punto se realizó una prueba de aceptación y una de discriminación mediante la degustación al producto obtenido en la última etapa a fin de analizar la aceptabilidad de la mayonesa con el agregado del extracto de yerba mate, en la Facultad de Ciencias y Tecnología de la Universidad Nacional de Itapúa con los estudiantes y docentes de dicha casa de estudios.

Para cada prueba se les proporcionó galletitas a base de agua para untar las muestras y agua para limpiar el paladar entre las muestras.

### **2.6.1. Diferencias sensoriales (Test del triángulo)**

La prueba del triángulo es una prueba de discriminación sensorial que consiste en presentar a cada juez tres muestras en órdenes diferentes, y se les advierte que dos muestras son iguales y la tercera es diferente. El juez debe indicar cuál es la muestra diferente (Carpenter *et al.*, 2009). En caso de no encontrar diferencias debe marcar una de ellas al azar. Si la selección se realiza al azar la probabilidad de elegir cada una de las muestras es de  $1/3$ , por lo tanto, la proporción obtenida en la experiencia se compara estadísticamente con esta probabilidad.

Cada una de las muestras se presentó con diferentes codificaciones y en 6 tipos de secuencias distintas que fueron siendo rotadas a lo largo de la degustación para las ochenta y cuatro personas con el fin de minimizar cualquier tipo de influencias accidentales. En el anexo C se encuentra la planilla utilizada.

Una vez concluido el test se procedió a contar las respuestas correctas obtenidas y se consultó con la tabla para interpretación de resultados de la prueba triangular (anexo D), en donde aparecen los valores críticos con un nivel de significancia del 5%, con el fin de determinar si existen diferencias perceptibles entre las muestras.

### **2.6.2. Prueba hedónica**

Se realizó una evaluación de las cualidades sensoriales mediante una degustación y la aplicación de una escala hedónica para la puntuación de 5 atributos del producto: color, olor, textura, sabor y aceptabilidad general con el fin de establecer la aceptación del producto (Sánchez & Albarracín, 2010)

Se les dio una descripción previa del procedimiento a las ochenta y cuatro personas que realizaron la degustación, y se les proporcionó un cuestionario que se puede apreciar en el anexo E, en donde indicaron el grado de satisfacción que le producía cada muestra en una escala del 1 al 9 para cada uno de los atributos presentados, que oscilaba desde “me disgusta muchísimo” a “me gusta muchísimo”; puntuando de esta manera a las 4 muestras de mayonesa, a saber: BHT, YM5 y 2 mayonesas comerciales. Una de las mayonesas elegida fue la denominada “Comercial 1” elaborada con aceite de girasol. La otra mayonesa “Comercial 2” fue escogida por su color verde peculiar que podría asociarse con el de la yerba mate y debido a sus características de alimento funcional.

### **2.7. Análisis estadístico**

El análisis estadístico de los datos se realizó utilizando el software Statgraphics Centurion XV (2009).

El efecto de la variable de estudio se evaluó mediante análisis de varianza (ANOVA) de un factor y el test *a posteriori* de la prueba de mínima diferencia significativa (LSD) de Fisher.

Los datos experimentales de índice de peróxido, índice de acidez y parámetros de color se ajustaron a modelos cinéticos de reacción de orden 0, 1 y 2, utilizando regresión no lineal.

Para procesar los datos obtenidos en las pruebas sensoriales se utilizó análisis de varianza (ANOVA) de un factor.

Todas las pruebas estadísticas se realizaron con un nivel de confianza del 95%.



# CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN



## **1. CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DEL EXTRACTO DE YERBA MATE**

### **1.1. Contenido de polifenoles totales y capacidad de captación de radical libre DPPH●**

El extracto acuoso utilizado como agente antioxidante para la formulación de las mayonesas presentó un contenido de polifenoles totales de 3,43 g equivalentes a ácido gálico (g EAG)/100 mL.

La capacidad de captación de radical libre de DPPH● del mismo extracto fue de 12,5 g equivalentes a ácido ascórbico (EAA)/100 mL.

La solución de BHT utilizada para la formulación de la muestra de mayonesa correspondiente presentó una capacidad de captación de radical libre de DPPH● de 0,26 g EAA/100 mL.

## **2. ENSAYOS PRELIMINARES**

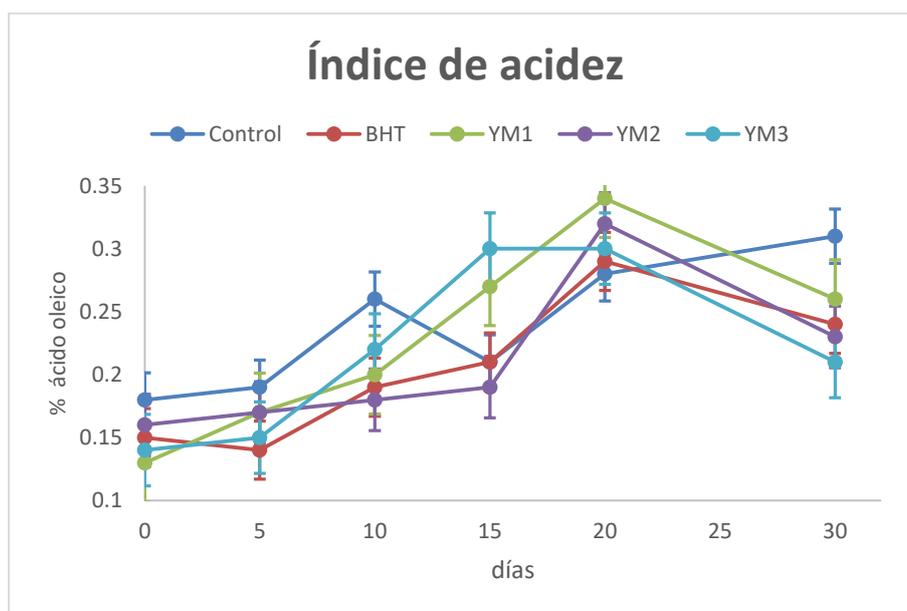
### **2.1. Índice de acidez**

El índice de acidez (IA) es de suma importancia para los aceites, grasas y para los alimentos de los cuales forman parte, ya que permite determinar el estado de conservación del producto alimenticio, midiendo el grado de descomposición de los triglicéridos debido a las reacciones químicas de hidrólisis o lipólisis, formando de ese modo ácidos grasos libres y como consecuencia, activando el proceso de rancidez hidrolítica (Badui Dergal, 2006).

En la figura 2 se pueden apreciar los resultados obtenidos referentes a IA de las muestras de mayonesa analizadas durante la etapa de ensayos preliminares. Como puede observarse, el Control presentó un valor inicial de 0,18% de ácido oleico y fue ascendiendo hasta presentar un leve descenso en el día 15 para posteriormente seguir en aumento hasta llegar a 0,31% de ácido oleico en el día 30. Por otro lado, la muestra BHT obtuvo un valor de 0,15% de ácido oleico en el tiempo 0, luego presentó un leve descenso en el día 5 a 0,14% de ácido oleico y al último día del ensayo su valor de IA fue de 0,24% de ácido oleico. La muestra YM1 presentó un valor inicial de 0,13% de ácido oleico, el mismo se incrementó hasta el día 20 para luego presentar una disminución en el día 30, de 0,34 a 0,26% de ácido oleico. La muestra de YM2, fue en aumento hasta el día 20 disminuyendo al último día a 0,23% de ácido oleico. Finalmente la muestra YM3 presentó en el día 0 un valor de 0,14% de ácido oleico y el día 30 se registró 0,21% de ácido oleico.

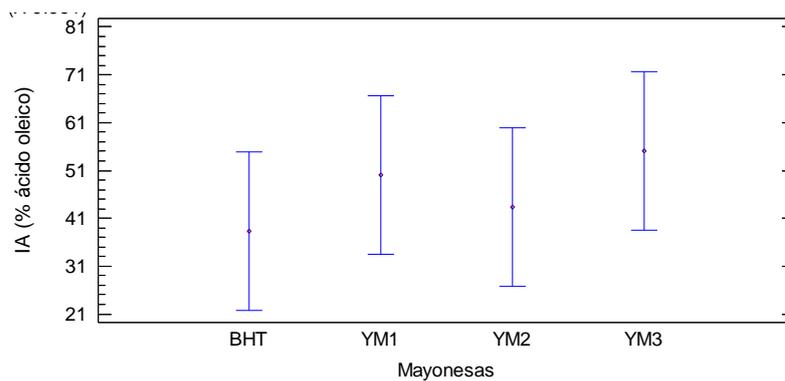
Al comprar los valores de IA al final de la prueba acelerada (día 30), se puede evidenciar que la muestra Control presentó un IA significativamente mayor ( $p < 0,05$ ), pudiéndose deber esto a que dicha mayonesa no contenía ningún tipo de antioxidante en su formulación; por lo contrario, las mayonesas YM2 y YM3 presentaron valores de IA significativamente menores ( $p < 0,05$ ) a las mayonesas Control, BHT y YM1. Este hecho demostraría un posible efecto protector a la rancidez hidrolítica del extracto de *I. paraguariensis* a altas concentraciones.

Sin embargo, las diferencias entre los IA de mayonesas formuladas utilizando BHT y el extracto de yerba mate a diferentes concentraciones no fueron estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) a lo largo de toda la prueba, pudiéndose concluir que la utilización tanto de BHT como de extractos de yerba mate en las concentraciones ensayadas producen el mismo efecto respecto al deterioro hidrolítico del aceite componente de la mayonesa (véase figura 3).



**Figura 2. Ensayos preliminares. Evolución del Índice de acidez (% ácido oleico) de muestras de mayonesas durante su almacenamiento.**

(*Control*, mayonesa sin el agregado de antioxidantes; *BHT*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM1*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,0002% p/p de concentración; *YM2*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,2% p/p de concentración; *YM3*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración).



**Figura 3. Ensayos preliminares. Índice de acidez (%ácido oleico) de las muestras de mayonesa.**

(*BHT*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM1*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,0002% p/p de concentración; *YM2*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,2% p/p de concentración; *YM3*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración).

## 2.2. Índice de peróxido

El índice de peróxido (IP) es un método que permite evaluar la rancidez oxidativa de aceites y grasas. El mecanismo de propagación de la rancidez oxidativa o también denominada autooxidación de lípidos, es mediante radicales libres, el cual consta en 3 etapas: iniciación, propagación y terminación. En la fase inicial ocurre la reacción de oxígeno atmosférico con los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados presentes en la mayoría de los aceites de origen vegetal. Esta reacción genera los productos primarios de la oxidación (peróxidos e hidroperóxidos), los cuales por una serie de reacciones paralelas producen los compuestos secundarios de la reacción, sean estos volátiles, como aldehídos, cetonas y ácidos, o no volátiles como dímeros, trímeros y polímeros, característicos de productos y olores rancios (Barrera-Arellano, 1998).

El método se basa en la medición del contenido de peróxidos (primeros productos) formados por la autooxidación de los lípidos, cuya consecuencia es la formación de compuestos intermedios que son precursores de productos finales aldehídos (McClements & Decker, 2000).

En la figura 4 se pueden observar los datos obtenidos durante el desarrollo de la prueba correspondiente a los ensayos preliminares, en el cual la muestra Control presentó los mayores valores de IP en comparación con las demás formulaciones de mayonesas, iniciando la prueba (día 0) con un valor de IP de 0,65 meq O<sub>2</sub>/kg, alcanzando su valor máximo al día 10 (3,16 meq O<sub>2</sub>/kg) y disminuyendo hacia el final de la prueba presentando un valor de IP de 1,56 meq

O<sub>2</sub>/kg en el día 30. Por otra parte, la muestra BHT obtuvo un valor de IP de 0,63 meq O<sub>2</sub>/kg al inicio de la prueba, alcanzando un valor máximo de 1,8 meq O<sub>2</sub>/kg en el día 10. El IP de la muestra de mayonesa formulada con BHT fue disminuyendo de manera gradual hasta alcanzar un valor final de 0,74 meq O<sub>2</sub>/kg.

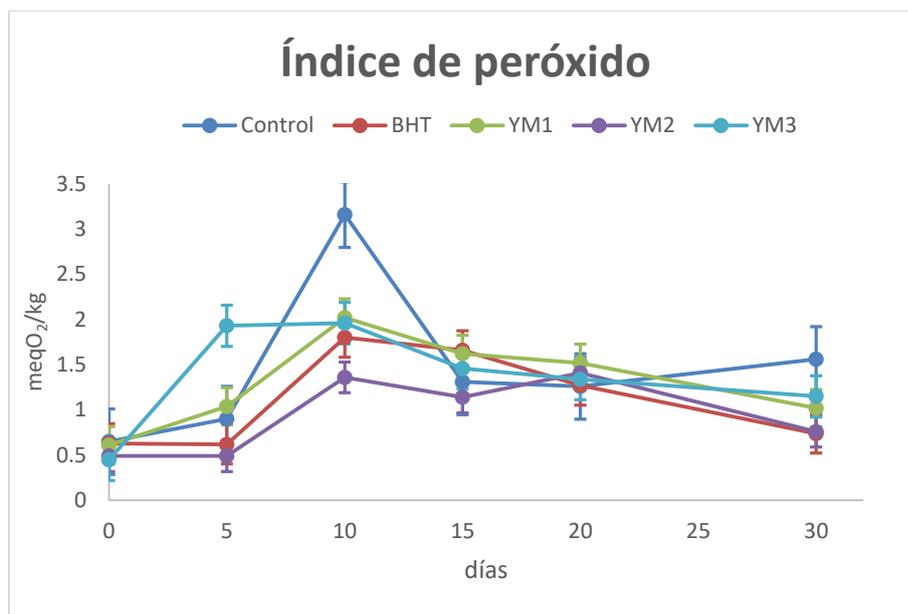
Las formulaciones de mayonesa con extracto de yerba mate YM1 y YM3 demostraron un comportamiento similar a las muestras Control y BHT. En el día 0, YM1 presentó un valor de 0,61 meq O<sub>2</sub>/kg de IP y luego de obtener su valor máximo de IP (2,02 meq O<sub>2</sub>/kg) en el día 10, fue disminuyendo hasta llegar a 1,02 meq O<sub>2</sub>/kg. Del mismo modo, YM3 que tuvo el valor inicial de IP más bajo (0,45 meq O<sub>2</sub>/kg) y tras el pico alcanzado en el día 10 (1,96 meq O<sub>2</sub>/kg), disminuyó hasta llegar a 1,15 meq O<sub>2</sub>/kg al final la prueba acelerada.

YM2 fue la única formulación que no alcanzó su valor máximo de IP el día 10, si bien fue ascendiendo dicho valor con el transcurso del tiempo, el día 15 presentó una leve disminución (1,14 meq O<sub>2</sub>/kg), para alcanzar su valor máximo de IP el día 20 (1,41 meq O<sub>2</sub>/kg) y luego descender a 0,76 meq O<sub>2</sub>/kg en el día 30.

Todas las muestras de mayonesa estudiadas durante los ensayos preliminares mostraron al inicio un aumento gradual de peróxidos hasta un valor máximo, como consecuencia de la oxidación lipídica, y posteriormente, la disminución de dicho valor hacia el final de la prueba acelerada, demuestra un grado de oxidación más avanzado. La disminución de los peróxidos puede deberse a su oxidación, pasando a formar otros compuestos como los aldehídos y cetonas (Barrera-Arellano, 1998; Badui Dergal, 2006).

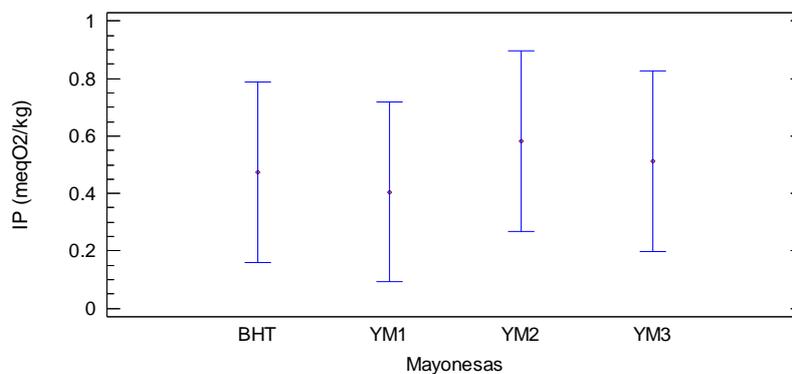
Al comparar los valores de IA al final de la prueba acelerada (día 30), se observaron diferencias estadísticamente significativas en el IP de la muestra Control, con valores significativamente superiores ( $p < 0,05$ ) al resto de las mayonesas.

A pesar de todo lo expuesto, los valores de IP de las diferentes muestras de mayonesas formuladas utilizando agentes antioxidantes analizadas a lo largo de toda la prueba acelerada no fueron significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ) (véase el figura 5), lo que demuestra que el uso de BHT y extractos de *Ilex paraguariensis*, en las concentraciones estudiadas, ejercen un efecto protector similar contra la oxidación de los lípidos de la mayonesa durante el almacenamiento en las condiciones ensayadas.



**Figura 4. Ensayos preliminares. Evolución del Índice de peróxido (meq O<sub>2</sub>/kg) de muestras de mayonesas durante su almacenamiento.**

(*Control*, mayonesa sin el agregado de antioxidantes; *BHT*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM1*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,0002% p/p de concentración; *YM2*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,2% p/p de concentración; *YM3*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración).



**Figura 5. Ensayos preliminares. Índice de peróxido (meq O<sub>2</sub>/kg) de las muestras de mayonesa.**

(*BHT*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM1*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,0002% p/p de concentración; *YM2*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,2% p/p de concentración; *YM3*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración).

### 2.3. Índice de Kreis

El índice de Kreis (IK) se utiliza para la valoración del estado de oxidación de los lípidos, es decir, indica cualitativamente el grado de rancidez del lípido en estudio (Fennema, 2010).

En la tabla 3 se presentan los resultados obtenidos para la prueba de Kreis, en donde se puede observar que desde el día 5 la muestra de mayonesa Control (sin el agregado de antioxidantes) y YM1 (0,0002% p/p de extracto de yerba mate) comenzaron a presentar una rancidez incipiente mientras que las demás muestras de mayonesa aún no presentaron cambios. La aparición inicial de la rancidez incipiente solamente en estas 2 formulaciones puede deberse precisamente a la ausencia de antioxidantes en la primera muestra y a la baja concentración del extracto de *Ilex paraguariensis* utilizado en la segunda.

Los mismos resultados se mantuvieron en el día 10 y ya a partir del día 15 todas las formulaciones de mayonesa presentaron rancidez incipiente; a excepción de la YM3 que presentó rancidez incipiente recién en el día 30, lo que pudiera justificarse en primera instancia, por la mayor concentración del extracto de yerba mate en dicha formulación.

**Tabla 3. Ensayos preliminares. Prueba de Kreis.**

Muestra	Día 0	Día 5	Día 10	Día 15	Día 20	Día 30
<b>Control</b>	(-)	R.I.	R.I.	R.I.	R.I.	R.I.
<b>BHT</b>	(-)	(-)	(-)	R.I.	R.I.	R.I.
<b>YM1</b>	(-)	R.I.	R.I.	R.I.	R.I.	R.I.
<b>YM2</b>	(-)	(-)	(-)	R.I.	R.I.	R.I.
<b>YM3</b>	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	R.I.

\*R.I.: Rancidez Incipiente.

(*Control*, mayonesa sin el agregado de antioxidantes; *BHT*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM1*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,0002% p/p de concentración; *YM2*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,2% p/p de concentración; *YM3*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración).

## 2.4. Estabilidad física

Durante la inspección macroscópica de las muestras de mayonesa a lo largo de la prueba acelerada, se pudo observar como a partir del día 10 las muestras de mayonesa Control y BHT comenzaron a presentar separación de fases. En el día 20 ya todas las muestras de mayonesa presentaron inestabilidad física.

**Tabla 4. Ensayos preliminares. Estabilidad física de las mayonesas.**

Muestra	Día 0	Día 5	Día 10	Día 15	Día 20	Día 30
<b>Control</b>	M.E.	S.E.	I.	I.	M.I.	M.I.
<b>BHT</b>	M.E.	S.E.	I.	I.	M.I.	M.I.
<b>YM1</b>	M.E.	M.E.	M.E.	E.	S.E.	I.
<b>YM2</b>	M.E.	E.	E.	E.	S.E.	M.I.
<b>YM3</b>	M.E.	E.	E.	S.E.	I.	M.I.

\*En donde: M.E: Muy estable; E: Estable; S.E: Semiestable; I: Inestable; M.I: Muy inestable

(*Control*, mayonesa sin el agregado de antioxidantes; *BHT*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM1*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,0002% p/p de concentración; *YM2*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,2% p/p de concentración; *YM3*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración).

## 2.5. Conclusiones de los ensayos preliminares

Tras la finalización de los ensayos preliminares y el análisis de los resultados obtenidos, se pudo concluir que, la mayonesa formulada utilizando extracto de yerba mate en una concentración de 0,4 % p/p fue la más estable desde el punto de vista fisicoquímico. A pesar de esto, los parámetros IA e IP para la mayonesa preparada utilizando esta concentración del extracto acuoso de *Ilex paraguariensis*, no presentaron diferencias estadísticamente significativas con las otras muestras. Asimismo, pudo observarse la coalescencia de todas las emulsiones analizadas (separación de las fases) tras la inspección ocular a partir del día 20 de la prueba acelerada.

Por tanto, para el estudio de la estabilidad fisicoquímica y aceptabilidad de mayonesas formuladas utilizando extracto de yerba mate como agente antioxidante natural, se decidió añadir agentes estabilizantes (*goma xántica* y *goma guar*) a las formulaciones, con el fin de evitar la separación de fases en etapas tempranas de la prueba acelerada de almacenamiento. Además, teniendo en cuenta que no existen límites máximos permitidos para extractos vegetales utilizados como antioxidantes naturales en los alimentos, se estableció trabajar con una mayor concentración de extracto de *I. paraguariensis* en las nuevas formulaciones de mayonesa (0,8% p/p).

### **3. PRUEBA ACELERADA DE LA ESTABILIDAD FISICOQUÍMICA DE MAYONESAS FORMULADAS UTILIZANDO EXTRACTO DE YERBA MATE COMO AGENTE ANTIOXIDANTE**

Se elaboraron: a) una mayonesa con 0,02% p/p de BHT, que en esta etapa se utilizó como control y se denominó como tal; b) otra mayonesa con 0,4% p/p de extracto de yerba mate, que fue la seleccionada de la etapa anterior, denominada en esta etapa de estudio como YM4 y c) una tercera muestra con el doble de concentración del extracto, 0,8% p/p (YM5).

#### **3.1. Índice de acidez**

En la tabla 5 se presentan los resultados obtenidos para el índice de acidez de las mayonesas analizadas en los diferentes intervalos de tiempo de estudio.

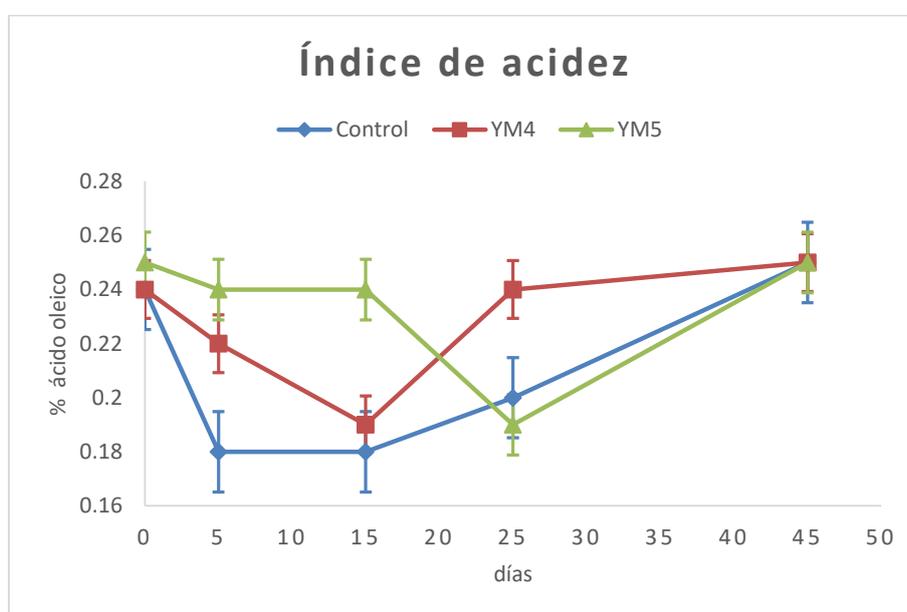
La variación del IA de las muestras de mayonesa analizadas a lo largo del almacenamiento a 35°C durante la etapa de estabilidad fisicoquímica se presenta en la figura 6. Las muestras Control y YM4 presentaron un comportamiento muy similar, con valores iniciales de IA de 0,24% de ácido oleico, que fueron disminuyendo hasta el día 15 (0,18 y 0,19% de ácido oleico respectivamente), a partir del cual tuvieron un ascenso gradual hasta el último día de estudio (45) en donde ambas formulaciones obtuvieron un valor de IA de 0,25% de ácido oleico.

Por otra parte la formulación YM5, en el primer día de estudio obtuvo un valor de 0,25% de ácido oleico de IA y fue descendiendo gradualmente con el transcurso del tiempo llegando en el día 25 hasta 0,19% de ácido oleico y posteriormente ascendió hasta el final del ensayo (día 45), presentando el mismo valor de IA que las demás muestras analizadas (0,25% de ácido oleico).

**Tabla 5. Valores de índice de acidez (% ácido oleico) de las muestras de mayonesas.**

Muestra	Día 0	Día 5	Día 15	Día 25	Día 45
<b>Control</b>	0,24	0,18	0,18	0,2	0,25
<b>YM1</b>	0,24	0,22	0,19	0,24	0,25
<b>YM2</b>	0,25	0,24	0,24	0,19	0,25

(*Control*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM4*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración; *YM5*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).

**Figura 6. Ensayos de estabilidad. Evolución del Índice de acidez (% ácido oleico) de muestras de mayonesas durante su almacenamiento.**

(*Control*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM4*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración; *YM5*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).

En un estudio realizado sobre la estabilidad fisicoquímica de mayonesas, almacenadas a 20°C durante 20 semanas, elaboradas con el agregado de polvo de jengibre como aditivo (0,5% p/p, 0,75% p/p, 1,0% p/p y 1,25% p/p), realizado por Kishk & Elsheshetawy, (2013), demostraron que la mayonesa control (sin el agregado de jengibre) obtuvo un valor final de IA significativamente mayor a las muestras que contenían polvo de jengibre, por otro lado, se notó

que el aumento significativo de la concentración de jengibre en las muestras de mayonesa inhibe el progreso en el IA. El valor del IA fue en ascenso gradual durante el periodo de estudio en todas las mayonesas, en donde el valor inicial para todas las formulaciones fue de 0,1 mg KOH/g, mientras que al final de la semana 20 ascendieron a 5,6; 3,1 y 3 mg KOH/g para las muestras control, 1,0% p/p y 1,25% p/p de jengibre respectivamente. Este aumento podría atribuirse principalmente a la actividad de microorganismos tolerantes a los ácidos que se encuentran en la fase acuosa de la mayonesa (Karas *et al.*, 2002).

Promediando los valores obtenidos de IA entre las semanas 4 y 8 por Kishk & Elsheshetawy, (2013), para lo que sería el día 45 en su investigación (día final del estudio de estabilidad fisicoquímica del presente trabajo realizado con extractos de yerba mate), la muestra control obtuvo valores cercanos a 3,3 mg KOH/g y la muestra con 1,25% p/p de jengibre 2,15 mg KOH/g; mientras que en las mayonesas formuladas con el extracto yerba mate presentaron valores mucho menores (expresados en la misma unidad del trabajo citado: 0,5 mg KOH/g) en las 3 muestras en estudio (control, YM3 y YM4), prácticamente sin mucha variación a lo largo del tiempo. Estos resultados se podrían deber a un posible mejor efecto sobre la estabilidad química del extracto de yerba mate agregado a mayonesas, en comparación con el polvo de jengibre.

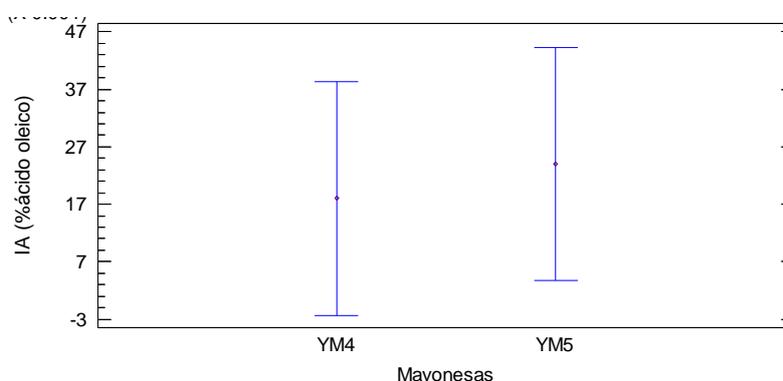
Reforzando esta suposición, Chun-Ying *et al.*, (2014) analizaron el efecto del extracto de la cáscara de maíz morado en mayonesas almacenadas a 4°C y 25°C durante 10 semanas en concentraciones de 0,1; 0,2 y 0,4 g/kg; además utilizaron muestras control sin el agregado de antioxidantes y otras con el agregado de BHT y EDTA. En el almacenamiento a ambas temperaturas se vio un incremento en el valor de IA a lo largo del tiempo, sin embargo este aumento no fue significativo en las muestras refrigeradas (4°C) donde los valores generales oscilaron de entre 1,1 a 1,5 mg KOH/g hasta la semana 10; mientras que en las muestras almacenadas a 25°C el aumento de IA fue estadísticamente significativa. La muestra de control aumentó su IA de 1,1 mg KOH/g de lípidos en el primer día de análisis a un valor final de 2,2 mg KOH/g de lípidos en la semana 10; en tanto, la muestra de mayonesa con mayor cantidad de extracto de cáscara de maíz morado en estudio (0,4 g/kg) obtuvo un valor final de 1,5 mg KOH/g.

Se puede apreciar nuevamente como los valores de IA en el estudio de Chun-Ying *et al.*, (2014) son mayores a los obtenidos con el extracto de yerba mate, incluso comparando los valores finales de IA equivalentes a 0,5 mg KOH/g en este trabajo, con los valores iniciales en

las mayonesas con extracto de cáscara de maíz morado (1,1 mg KOH/g), estudio realizado además a temperaturas de almacenamiento menores (4°C y 25°C).

Otro trabajo realizado evaluando la estabilidad oxidativa de mayonesas con el agregado de extractos naturales realizado por García *et al.* (2014) utilizando quitosanos con diferentes pesos moleculares en las formulaciones (concentraciones de 100 mg/kg de quitosano I y 100 mg/kg de quitosano II). La investigación se llevó a cabo durante 63 días a temperaturas de almacenamiento de 37 °C, 47 °C y 57 °C utilizando como muestra control una mayonesa con EDTA. Se observó que el quitosano usado no influyó en el IA, y además, los valores para este parámetro se mantuvieron casi constantes para todos los tratamientos durante el almacenamiento acelerado; este comportamiento similar presentaron las muestras de mayonesas con el agregado de extracto de yerba mate, tal como se puede observar en las figuras 6 y 7, en donde los resultados obtenidos durante la investigación para del IA en la etapa de estudio de la estabilidad fisicoquímica arrojaron los valores iniciales y finales de las tres formulaciones sin variación significativa ( $p>0,05$ ), al realizar la comparación entre ellas (YM4 con 0,4% p/p de extracto, YM5 con 0,8% p/p de extracto y la muestra Control con 0,02% p/p de BHT). Este hecho demuestra que el agregado de extracto de yerba mate ejerce un efecto similar al del BHT en el deterioro hidrolítico del aceite componente de la mayonesa.

Cabe destacar que, los valores de IA obtenidos durante la prueba acelerada de las mayonesas formuladas en el presente trabajo superaron el límite máximo establecido en el Código Alimentario Argentino (2017) para aceites de girasol del 0,2% de ácido oleico, desde el día de 0.



**Figura 7. Ensayos de estabilidad. Índice de acidez (% ácido oleico) de las muestras de mayonesa.**

(YM4, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración; YM5, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).

El IA de las diferentes formulaciones de mayonesa en la etapa de evaluación de la estabilidad fisicoquímica no se ajustó a ninguno de los modelos cinéticos ensayados, lo cual indica que no se puede predecir su comportamiento en el tiempo.

### 3.2. Índice de peróxido

La peroxidación lipídica, en emulsiones alimenticias, conduce a la producción de sabores y olores extraños, lo que acorta la vida útil de estos productos (Rasmy *et al.*, 2012). Este proceso de oxidación, es de gran interés en la industria alimentaria, pues disminuye la vida útil del alimento y hace que los mismos sean inaceptables para el consumidor, es por ello que se busca retardar ese proceso con el agregado de antioxidantes, ya sean estos de origen sintético o natural (Rondon *et al.*, 2004).

En la tabla 6 se presentan los resultados obtenidos para el índice de peróxido de las mayonesas analizadas en los diferentes intervalos de tiempo de estudio.

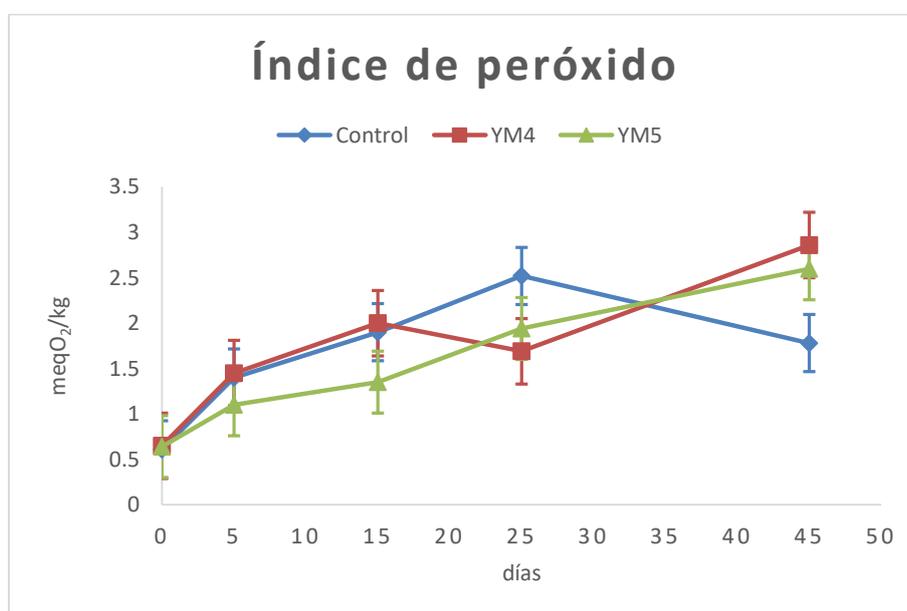
En la figura 8 presenta la variación del IP durante el tiempo de almacenamiento de las mayonesas a 35 °C en la prueba acelerada realizada. Como se puede observar, el IP fue aumentando a lo largo de los días, lo que supone a su vez que existe un aumento en la rancidez de la mayonesa como resultado de la formación de peróxidos.

El IP de la muestra Control se incrementó hasta el día 25, donde presentó su valor máximo (2,52 meq O<sub>2</sub>/kg), a partir del cual comenzó a descender hasta el día 45 (final de la prueba). En el caso de las mayonesas YM4 y YM5, los valores de IP fueron ascendiendo a lo largo de la prueba de manera gradual hasta alcanzar un valor de 2, 86 meq O<sub>2</sub>/kg para YM4 y 2,6 meq O<sub>2</sub>/kg, para la muestra YM5.

**Tabla 6. Valores de índice de peróxido (meq O<sub>2</sub>/kg) de las muestras de mayonesas.**

Muestra	Día 0	Día 5	Día 15	Día 25	Día 45
<b>Control</b>	0,61	1,4	1,9	2,52	1,78
<b>YM1</b>	0,65	1,45	2	1,69	2,86
<b>YM2</b>	0,64	1,1	1,35	1,94	2,6

(*Control*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM4*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración; *YM5*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).

**Figura 8. Ensayos de estabilidad. Evolución del Índice de peróxido (meq O<sub>2</sub>/kg) de muestras de mayonesas durante su almacenamiento.**

(*Control*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM4*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración; *YM5*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).

No se puede asegurar que los valores finales obtenidos por las muestras con extracto de yerba mate en el día 45 sean el punto máximo de la reacción, debido que la prueba concluyó en ese día y no pudo observarse si el valor de IP continuó ascendiendo o comenzó a disminuir. Sin embargo, en la muestra Control sí se observó el valor máximo de IP en el día 25; con lo cual se podría señalar que, si bien el efecto del extracto de yerba mate no evita la oxidación de

lípidos presentes en la muestras de mayonesas, retrasa la formación de peróxidos reactivos con mayor efectividad respecto al antioxidante sintético BHT.

Rasmy *et al.*, (2012) estudiaron el efecto de la adición de extracto etanólico de salvia (*Salvia officinalis L.*), a diferentes concentraciones (100, 200 y 400  $\mu\text{g/g}$ ), sobre la oxidación de los lípidos de la mayonesa almacenada a temperatura ambiente durante 4 meses, comparadas con una muestra control (sin el agregado de antioxidantes) y una muestra con BHA (200  $\mu\text{g/g}$ ). En los resultados arrojados tras el análisis del IP se observó que en todas las muestras (a excepción de la muestra que contenía la mayor concentración del extracto de salvia (400  $\mu\text{g/g}$ )), hubo un aumento significativo de los valores de IP sin llegar a un punto máximo durante el tiempo de estudio en donde se pueda comprobar su posterior descenso. Este comportamiento es similar al estudio al presentado por YM4 y YM5 en la figura 8, lo que podría deberse a que se siguen formando peróxidos a consecuencia del proceso de oxidación lipídica (Barrera-Arellano, 1998).

La mayonesa con extracto de salvia (400  $\mu\text{g/g}$ ) prácticamente no presentó variación entre sus valores de IP durante el estudio, demostrando un excelente efecto antioxidante sobre la estabilidad de la mayonesa, incluso mejor al antioxidante químico utilizado en el ensayo, por lo que podría usarse como antioxidante natural en el procesado de alimentos (Rasmy *et al.*, 2012).

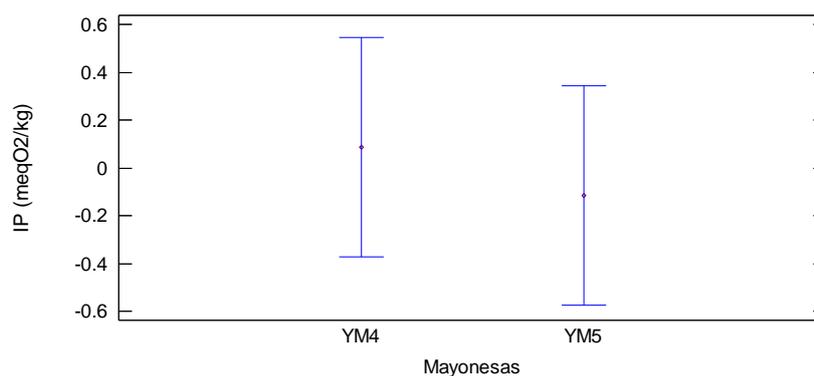
De igual modo, Mihov *et al.*, (2012) evaluaron la estabilidad oxidativa de emulsiones alimenticias similares a la mayonesa (por su reducido contenido de aceite (50% aceite de oliva virgen) con el agregado de extractos de perejil (0,32% p/p) y pimienta negra (0,2% p/p), durante 20 días almacenadas a 4 °C. Los valores de IP de ambas formulaciones fueron en ascenso hasta el final del estudio y tampoco se pudo observar un posterior descenso de los mismos tras obtener un punto máximo durante la prueba. El valor final más alto de IP la obtuvo la muestra sin el agregado del extracto; demostrando una mayor resistencia a la oxidación por parte de las muestras que contenían el agregado de extracto de perejil y pimienta negra, así como también las formulaciones YM4 y YM5 en el presente estudio.

En un estudio realizado sobre la estabilidad oxidativa de mayonesas, almacenadas a 20°C durante 20 semanas, elaboradas con el agregado de polvo de jengibre como aditivo (0,5% p/p, 0,75% p/p, 1,0% p/p y 1,25% p/p), realizado por Kishk & Elsheshetawy (2013), los valores de peróxido se incrementaron significativamente en las muestras de mayonesa preparadas durante el periodo de almacenamiento, sin embargo la adición de jengibre (1.0% p/p y 1.25% p/p) pudo

retardar el aumento de dicho valor en las formulaciones de mayonesas. En este caso la muestra Control también presentó una oxidación lipídica mayor, en comparación con las muestras de mayonesas con extractos de jengibre; el mismo resultado se observó con la muestra Control (del estudio de la estabilidad oxidativa del extracto de yerba) en comparación con las muestras YM4 y YM5.

García *et al.*, (2014) observaron la existencia de una tendencia hacia el aumento de los valores de IP en todas las formulaciones de mayonesa con quitosano (100 mg/kg de quitosano I y 100 mg/kg de quitosano II) y en la muestra control (EDTA) almacenadas a 37, 47 y 57°C durante 65 días. Sin embargo, las formulaciones elaboradas con quitosano presentaron valores inferiores de IP con respecto a la mayonesa con EDTA, demostrando de esta manera que el quitosano puede ser utilizado como antioxidante natural en las mayonesas, debido a que pueden disminuir la oxidación de los lípidos, aún a temperaturas elevadas.

Si bien, el análisis estadístico demostró que no existen diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre los valores del índice de peróxido de las diferentes formulaciones de mayonesa durante los 45 días de almacenamiento (figura 9), el agregado del extracto de yerba mate a las mayonesas sobre todo en la concentración de 0,8% p/p mostró tener una actividad antioxidante, retrasando la formación de peróxidos, hecho directamente relacionado con contenido de polifenoles presentes en el extracto que presentan un efecto inhibitor sobre el valor del peróxido (Colpo *et al.*, 2016).



**Figura 9. Ensayos de estabilidad. Índice de peróxido (meq O<sub>2</sub>/kg) de las muestras de mayonesa.**

(YM4, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración; YM5, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).

Como se ha descrito anteriormente las 3 formulaciones de mayonesa elaboradas en esta etapa, presentaron una tendencia hacia al aumento del IP, lo que fue posible comprobar mediante el análisis de datos por regresión. Los datos de IP a lo largo del tiempo ajustaron de manera significativa ( $p < 0,05$ ) al modelo cinético de primer orden, pudiéndose predecir el comportamiento de este parámetro utilizando la ecuación correspondiente a dicho modelo.

Es importante señalar que todos los valores obtenidos de IP a lo largo de la prueba no superaron el límite máximo permitido para este parámetro (10 meq O<sub>2</sub>/kg) en muestras de aceite de girasol establecido en el Código Alimentario Argentino (2017).

### 3.3. Índice de Kreis

La intensidad de color obtenido en la prueba de Kreis es proporcional al índice de peróxidos de la muestra ensayada, indicando la extensión de la autooxidación de los lípidos (Fennema, 2010). Los compuestos responsables de la reacción de color de Kreis de las grasas oxidadas son los aldehídos y cetonas (Patton *et al.*, 1951).

En la tabla 7 se pueden apreciar los resultados de la prueba de Kreis. Allí puede observarse que desde el día 15 la muestra de mayonesa YM4 (0,4% p/p de extracto de yerba mate) comenzó a presentar una rancidez incipiente. Esta manifestación temprana observada en la muestra YM4, puede deberse al menor contenido de extracto agregado como antioxidante natural al producto. A partir del día 25 todas las formulaciones de mayonesa presentaron rancidez incipiente. Esto se puede asociar directamente a los resultados obtenidos referentes al IP, en donde consta que con el pasar de los días las muestras de mayonesas fueron aumentando su contenido de peróxidos como resultado de la oxidación de los lípidos presentes en el producto.

No se encontraron datos con respecto al índice de Kreis en mayonesas en la literatura para su comparación, sin embargo, Mehta *et al.*, (2018) evaluaron diferentes métodos para monitorear la etapa primaria de oxidación de la grasa de leche clarificada por calor, en donde, se observó un aumento gradual del índice de Kreis en las muestras durante su periodo de almacenamiento (10 días). Es necesario tener en cuenta que aunque la prueba de Kreis es valiosa para determinar la el avance de la oxidación en el momento en que se realiza la prueba, no proporciona una indicación relativa al tiempo que transcurrirá antes de que una grasa se vuelva rancia organolépticamente.

**Tabla 7. Prueba de Kreis - estudio de la estabilidad.**

Muestra	Día 0	Día 5	Día 15	Día 25	Día 45
<b>Control</b>	(-)	(-)	(-)	R.I.	R.I.
<b>YM4</b>	(-)	(-)	R.I.	R.I.	R.I.
<b>YM5</b>	(-)	(-)	(-)	R.I.	R.I.

\*Rancidez Incipiente.

(*Control*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM4*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración; *YM5*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).

### 3.4. Estabilidad física

La utilización de gomas guar y goma xantán en esta etapa fue crucial para alcanzar la estabilidad física de las mayonesas, contribuyendo en la retención de la viscosidad y permitiéndoles mantenerse estables hasta el día final de las determinaciones sin presentar indicios de separación de fases en ninguna de las formulaciones (tabla 8) y con una textura completamente homogénea.

Varios autores han comprobado que la adición de estas gomas en conjunto aumentan la viscosidad de la mayonesa sinérgicamente (Rahmati *et al.*, 2014; Puligundla *et al.*, 2015). También Borda (2011) ha señalado que la combinación de estas dos gomas presenta mejores resultados frente a la separación de las fases en emulsiones en su investigación referente a aderezos.

Los resultados obtenidos demuestran una mayor estabilidad en las mayonesas, evitando defectos en la textura, y generando mejoras de las propiedades organolépticas del producto.

**Tabla 8. Estabilidad física de las mayonesas – estudio de la estabilidad.**

Muestra	Día 0	Día 5	Día 15	Día 25	Día 45
<b>Control</b>	M.E.	M.E.	E.	E.	E.
<b>YM4</b>	M.E.	M.E.	E.	E.	E.
<b>YM5</b>	M.E.	M.E.	E.	E.	E.

\*En donde: M.E: Muy estable; E: Estable

(*Control*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM4*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración; *YM5*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).

#### **4. EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE COLOR (*L*, *a* Y *b*) DE LA MAYONESA DURANTE SU ALMACENAMIENTO**

El color es una cualidad organoléptica de los alimentos que suele ser considerada un factor más bien psicológico de apreciación y sobre todo un importante criterio a la hora de elegir un producto alimenticio (Mathias-Rettig & Ah-Hen, 2014).

El color es un factor que presenta relevancia en la elaboración de nuevos productos; por este motivo se realizaron mediciones continuas de los parámetros de color *L*, *a* y *b* durante el almacenamiento a 35 °C de las muestras de mayonesa estudiadas.

En la tabla 9 se presentan los resultados obtenidos para los parámetros de color *L*, *a* y *b* de las mayonesas analizadas en los diferentes intervalos de tiempo de estudio.

**Tabla 9. Parámetros de color  $L$ ,  $a$  y  $b$  de las muestras de mayonesa.**

	<b>Día 0</b>	<b>Día 5</b>	<b>Día 25</b>	<b>Día 45</b>
<b><math>L</math></b>				
<b>Control</b>	88.4	84.91	83.2	83.86
<b>YM1</b>	86.21	82.07	81.28	78.21
<b>YM2</b>	85.19	79.49	79.58	75.61
<b><math>a</math></b>				
<b>Control</b>	1.77	1.89	2.38	1.91
<b>YM1</b>	1.55	1.79	2.17	1.7
<b>YM2</b>	1.24	1.46	2.49	1.65
<b><math>b</math></b>				
<b>Control</b>	21.18	21.27	20.36	17.48
<b>YM1</b>	21.05	21.43	20.33	18.56
<b>YM2</b>	20.89	21.3	20.72	18.38

(*Control*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM4*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración; *YM5*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).

#### **4.1. Parámetro $L$**

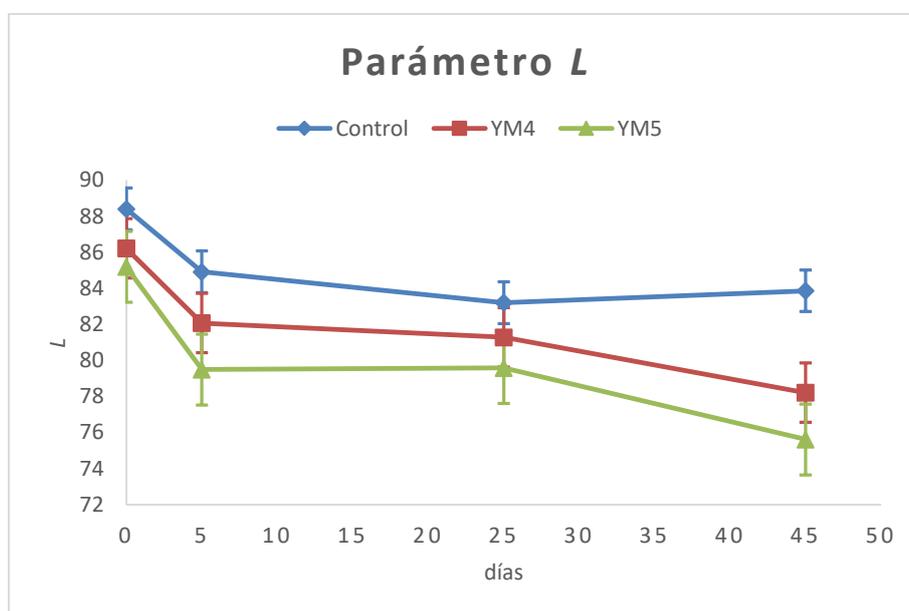
En la figura 10 se presentan los valores del parámetro  $L$  que representa la luminosidad de las 3 muestras de mayonesas elaboradas, durante los 45 días de almacenamiento a 35°C. La escala del parámetro de color  $L$  varía de 0 a 100, en donde 0 es negro y 100 es el blanco perfecto.

El parámetro  $L$  en esta prueba de estabilidad, disminuyó a lo largo del tiempo en todas las muestras de mayonesa analizadas. La disminución gradual del parámetro  $L$  indica que las diferentes mayonesas fueron tornándose más oscuras con el correr de los días durante el almacenamiento.

La muestra de mayonesa formulada con BHT como antioxidante, fue la formulación más clara presentando un valor de  $L$  de 88,4 en el día 0 de la prueba y alcanzando un valor de 83,86 hacia el día 45. Es de destacar que el BHT es un polvo cristalino blanco que se utiliza en muy

pequeñas cantidades como aditivo alimentario (en este caso: 0,02 % p/p) por lo que no aporta color al producto final.

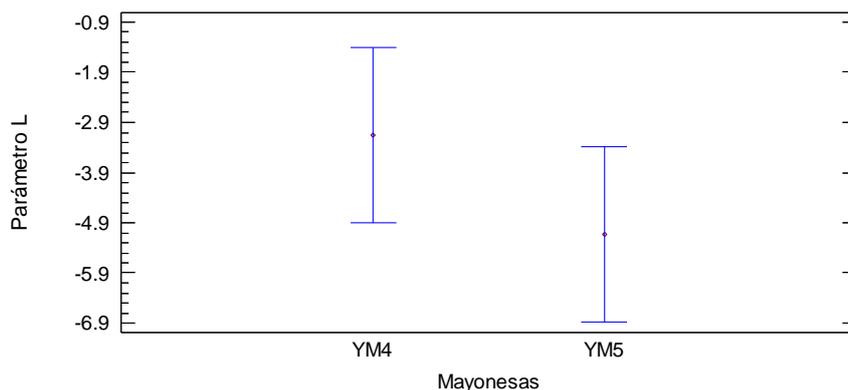
YM4 presentó una coloración más oscura en comparación con la muestra Control en el día 0 de la prueba (86,21) y fue adquiriendo un color más oscuro a lo largo de los días alcanzando un valor del parámetro de 78,21 para el color  $L$ . Por otro lado, YM5, formulada utilizando la mayor concentración del extracto de yerba mate, presentó el menor valor de  $L$  al inicio de la prueba (85,19) y alcanzó el menor valor para este parámetro al día 45 (75,61) siendo la muestra más oscura de entre las 3.



**Figura 10. Evolución del parámetro de color  $L$  de las muestras de mayonesa.**

(*Control*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM4*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración; *YM5*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).

A pesar de esto, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) en la luminosidad de las dos mayonesas formuladas utilizando extracto de yerba mate como antioxidante natural (figura 11).



**Figura 11. Parámetro de color  $L$  de las muestras de mayonesa.**

(*YM4*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración; *YM5*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).

El mismo comportamiento se observó en el trabajo de Preci *et al.*, (2011) que consistió en la adición de extracto de yerba mate como antioxidante natural en yogurt light en concentraciones de 0,1 y 0,25% p/p, con y sin el agregado de probióticos; almacenados por 60 días a 5°C. Indicaron que desde el día 0 se observó una reducción en los valores de luminosidad ( $L$ ) en las muestras de yogurt con la adición del extracto en las diferentes concentraciones, esta disminución también se dio afectada con el correr de los días. Las muestras sin el agregado de extractos obtuvieron los valores más altos de  $L$  desde el primer día; y ya a partir del día 60 la diferencia de los valores de luminosidad entre la muestra control y las que contenían el extracto presentaron una diferencia estadísticamente significativa.

Como se ha descrito anteriormente las 3 formulaciones de mayonesa elaboradas en esta etapa, presentaron una tendencia hacia la disminución, lo que fue posible comprobar mediante el análisis de datos por regresión. Los datos del parámetro  $L$  a lo largo del tiempo ajustaron de manera significativa ( $p < 0,05$ ) al modelo cinético de primer orden, pudiéndose predecir el comportamiento de este parámetro utilizando la ecuación correspondiente a dicho modelo.

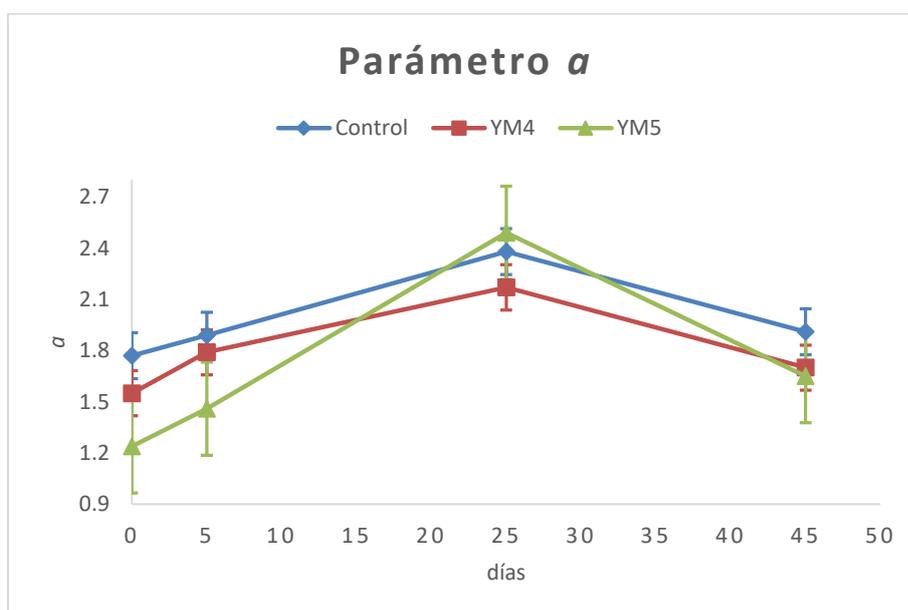
#### 4.2. Parámetro $a$

En el parámetro  $a$  describe la variación verde-rojo. Los valores positivos de este parámetro indican que el color se acerca al rojo, y valores negativos indican tendencia al color verde, adoptando el valor y 0 para los grises.

Como puede observarse en la figura 12, en el día 0 *YM4* y *YM5* presentaron valores de  $a$  de 1,55 y 1,24, respectivamente, los que fueron en ascenso hasta el día 25 de la prueba, para

luego obtener en el día 45 valores semejantes a los iniciales. Estos valores, si bien muy cercanos al 0, presentaron una inclinación más hacia el color rojo que al verde, pudiéndose deber esto a la poca cantidad de extracto utilizada en las formulaciones que no permite que la mayonesa presente el color verde característico de la yerba mate en la emulsión.

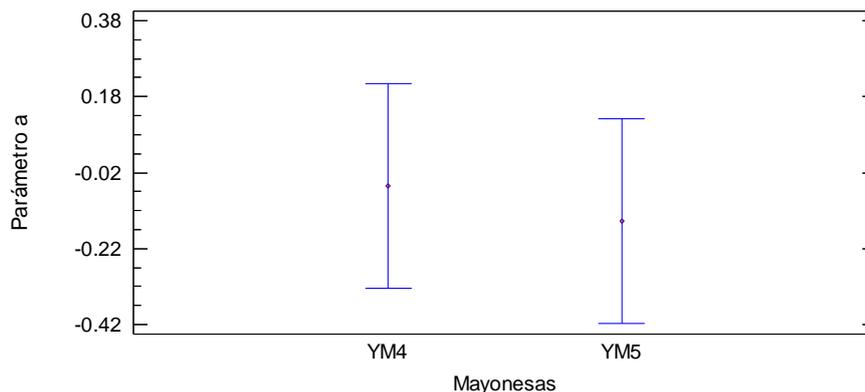
La muestra Control presentó valores inicial de 1,77 y final de 1,91, superiores a las muestras que contenían el extracto, y presentó el mismo comportamiento que las demás formulaciones, alcanzando un punto máximo el día 25 para posteriormente descender a valores semejantes a los iniciales.



**Figura 12. Evolución del parámetro de color  $\alpha$  de las muestras de mayonesa.**

(Control, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; YM4, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración; YM5, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).

Cabe destacar que no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) en los valores del parámetro  $\alpha$  de color de las diferentes muestras analizadas.



**Figura 13. Parámetro de color  $a$  de las muestras de mayonesa.**

(*YM4*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración; *YM5*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).

Las muestras de yogurt con el agregado de extracto de yerba mate estudiadas por Preci *et al.*, (2011) presentaron valores de  $a$  negativos, es decir con una tendencia hacia el color verde en todas sus formulaciones, a diferencia de las muestras de mayonesa elaboradas en el presente trabajo. La principal causa de esta diferencia se debe a que se trata de alimentos diferentes, con diferentes ingredientes utilizados para su formulación que interfieren de forma directa en el color final del producto.

El parámetro  $a$  de las diferentes formulaciones de mayonesa no se ajustó de manera significativa ( $p > 0,05$ ) a ningún modelo cinético simple, lo que indica que no se puede predecir su comportamiento.

#### 4.3. Parámetro $b$

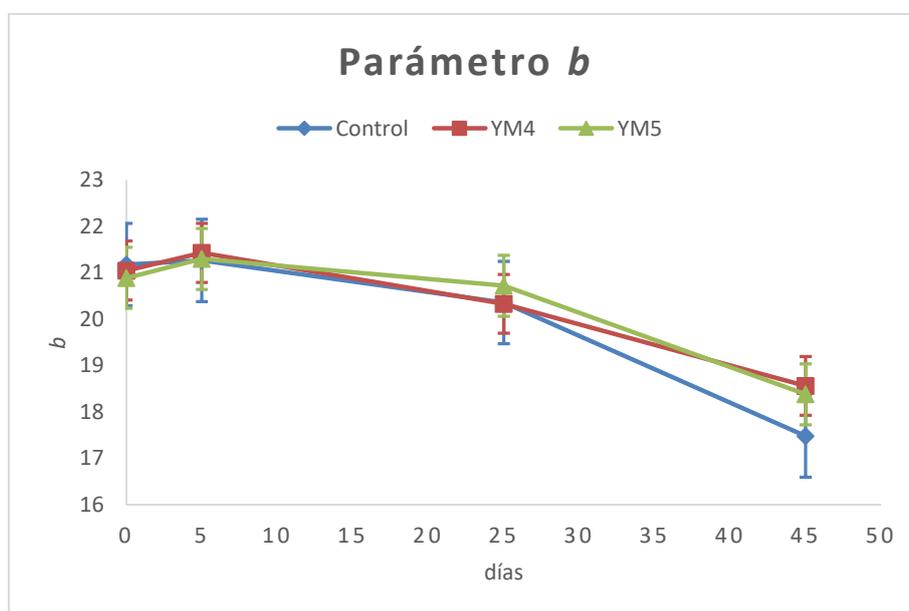
El parámetro de color  $b$  mide la posición del color entre el amarillo y azul; valores negativos de  $b$  indican azul, mientras que valores positivos indican amarillo y adopta el valor 0 para los grises.

En la figura 14 se puede apreciar como el parámetro  $b$  de color presentó valores positivos (tendencia al amarillo) con un comportamiento muy similar entre las diferentes formulaciones de mayonesa, descendiendo de manera gradual a lo largo del tiempo de almacenamiento.

Los valores de color  $b$  presentados al inicio de la prueba para la muestra Control, YM4 y YM5 fueron de 21,18; 21,05 y 20,89, respectivamente. Los valores del parámetro  $b$  al final de

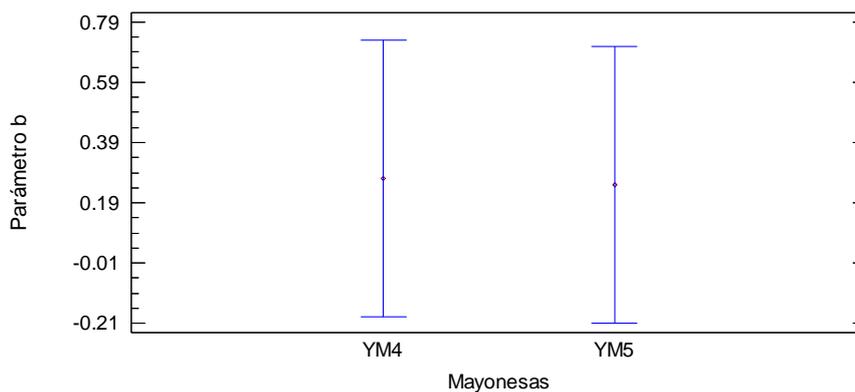
la muestra fueron de 17,48 para la muestra Control, 18,56 para YM4 y 18,38 para YM5, no observándose una diferencia estadísticamente significativa entre las diferentes muestras analizadas a lo largo del periodo de almacenamiento (figura 15).

Un comportamiento similar fue observado en las muestras de yogurt formuladas con extracto de yerba mate estudiadas en el trabajo de Preci *et al.*, (2011). Allí, los autores demostraron que las muestras de yogurt formuladas sin el extracto de yerba mate presentan menores valores de  $b$ , mientras las muestras con el extracto de yerba mate exhiben un color más amarillo (parámetro  $b$  mayor), siendo esta diferencia significativa.



**Figura 14. Evolución del parámetro de color  $b$  de las muestras de mayonesa.**

(*Control*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM4*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración; *YM5*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).



**Figura 15. Parámetro de color  $b$  de las muestras de mayonesa.**

(*YM4*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,4% p/p de concentración; *YM5*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).

El parámetro de color  $b$  de las diferentes formulaciones de mayonesa en la etapa de evaluación de la estabilidad fisicoquímica no se ajustó significativamente ( $p > 0,05$ ) a ninguno de los modelos cinéticos ensayados, lo cual indica que no se puede predecir su comportamiento en el tiempo.

## 5. ANÁLISIS SENSORIAL

En el diseño de cualquier producto alimenticio nuevo o modificado se debe tener en cuenta los aspectos sensoriales (Ramírez-Nava, 2012). Si bien existen algunas investigaciones publicadas con respecto al uso del extracto de yerba mate como antioxidante natural en alimentos, no se cuenta con muchos datos acerca de la evaluación sensorial del producto terminado; un parámetro importante es la aceptación del mismo por parte del consumidor para comprobar si en realidad es viable reemplazar un antioxidante sintético por uno natural a la hora de elaborar nuevos productos alimenticios (Beal *et al.*, 2011).

En este trabajo se ha realizado un análisis sensorial de la mayonesa formulada utilizando extracto de yerba mate como antioxidante natural mediante la realización de una prueba de discriminación (test del triángulo) y la evaluación de la aceptabilidad del producto mediante una escala hedónica.

### 5.1. Test del triángulo

Esta prueba se utilizó para determinar si existía alguna diferencia sensorial inespecífica entre la mayonesa elaborada utilizando el agente antioxidante comúnmente utilizado en la industria (BHT) y el producto formulado utilizando la mayor concentración de extracto de *I. paraguariensis* (YM5) (Carpenter *et al.*, 2009).

De un total de 84 panelistas que realizaron el test del triángulo, solamente 32 pudieron detectar la muestra diferente. Estos resultados indican que no existen diferencias sensoriales perceptibles entre la mayonesa formulada con y sin extracto de yerba mate como antioxidante natural ( $p > 0,05$ ), es decir, la adición del extracto de *I. paraguariensis* no imparte ninguna característica extra al producto que lo haga diferente al compararlo con otro que no contiene el extracto.

### 5.2. Prueba hedónica

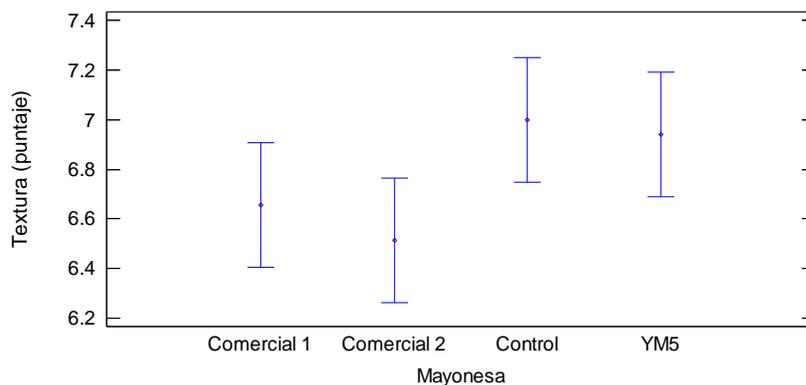
Las pruebas se realizaron con 84 panelistas juzgaron 5 atributos (color, aroma, textura, sabor y aceptabilidad general) de 4 muestras de mayonesas, a saber: a) una elaborada utilizando el antioxidante sintético BHT, b) una muestra elaborada extracto de yerba mate como antioxidante natural a una concentración de 0,8 % p/p (YM5) y dos muestras de mayonesa de marcas comerciales, c) una elaborada utilizando aceite de girasol (Comercial 1) y d) la otra con aceite de oliva (Comercial 2), con el fin de establecer la aceptación del producto (Sánchez & Albarracín, 2010).

A continuación se detallan los resultados obtenidos para cada uno de los atributos.

#### 5.2.1. Textura

Según los 84 panelistas la textura de las cuatro mayonesas degustadas fue muy buena, obteniendo valores elevados y similares en la puntuación (Control: 7; YM5: 6,9; Comercial 1: 6,6; Comercial 2: 6,5), que van desde “me gusta ligeramente” (6) a “me gusta moderadamente” (7) para los valores de la escala hedónica utilizada. En la figura 16 se puede observar como estas puntuaciones presentadas no difieren entre sí.

Tras el análisis de los resultados obtenidos luego de la degustación se puede manifestar que la presencia del extracto de yerba mate no influyó significativamente ( $p > 0,05$ ) en la textura de la mayonesa.



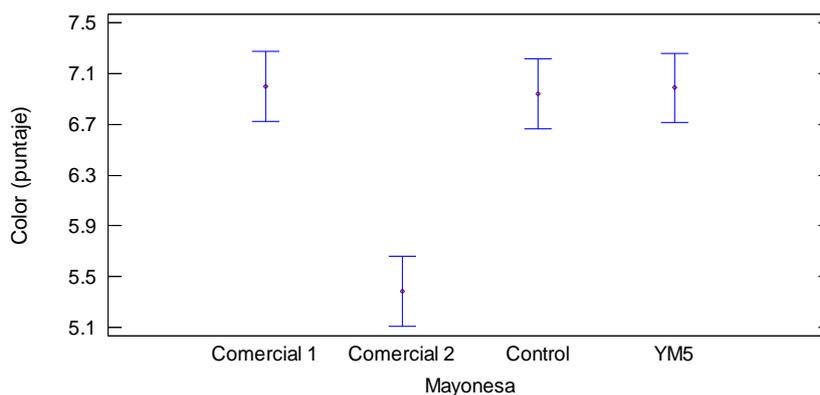
**Figura 16. Puntajes medios para la textura de las mayonesas.**

(*Comercial 1*, Fanacoa; *Comercial 2*, Mayoliva; *Control*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM5*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).

### 5.2.2. Color

Las mayonesas Control, YM5 y Comercial 1 obtuvieron apreciaciones similares a la hora de puntuar el parámetro de color, con puntajes promedio de 6,9, 7,0 y 7,0, respectivamente. Por otra parte, se pudo observar que la muestra Comercial 2 (mayoliva) obtuvo una puntuación significativamente menor (5,4) ( $p < 0,05$ ) con respecto a los otros tres productos presentados (véase la figura 17). Este hecho puede estar asociado al característico color verde que presenta dicha mayonesa, que influyó de forma negativa en la evaluación de la apariencia del producto.

Es necesario tener en cuenta que esta característica visual es un elemento clave en la industria alimentaria, suele inducir al consumidor en cierta manera a esperar un determinado sabor y posiblemente el hecho de no estar muy acostumbrados a una apariencia de aspecto verde en la mayonesa fue lo que los llevó a puntuar de esa manera. Resultados similares se obtuvieron al analizar sensorialmente por medio de una escala hedónica el chocolate blanco con extracto de yerba mate a una concentración del 5% p/p, en donde un chocolate con un color verde bastante acentuado, originó una menor aceptación por parte de los consumidores en comparación a las muestras control sin el agregado de extracto (Zanchett *et al.*, 2016).



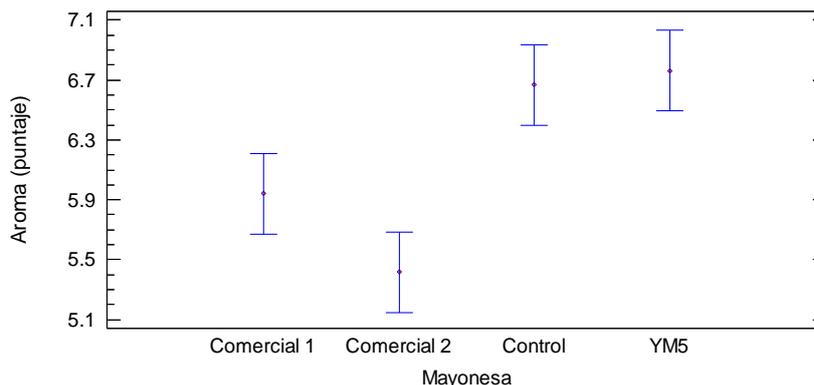
**Figura 17. Puntajes medios para el color de las mayonesas.**

(*Comercial 1*, Fanacoa; *Comercial 2*, Mayoliva; *Control*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM5*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).

### 5.2.3. Aroma

En cuanto a la percepción olfativa pudo observarse que, las muestras comerciales obtuvieron puntajes menores con respecto a las muestras de mayonesa elaboradas utilizando la fórmula presentada en este trabajo con el agregado de BHT y extracto de yerba mate como agentes antioxidantes.

En la figura 18 se pueden observar dos grupos homogéneos en cuanto a los puntajes obtenidos al apreciar el aroma de los productos: a) Control y YM5 y b) Comercial 1 y Comercial 2. Como se ha mencionado, las mayonesas Control (6,7) y YM5 (6,8) no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ellas ( $p > 0,05$ ), y fueron apreciadas más positivamente respecto a las muestras comerciales de mayonesa degustadas Comercial 1 (6) y Comercial 2 (5,4) que registraron puntuaciones significativamente menores ( $p < 0,05$ ) para el atributo del aroma en un rango de “me gusta ligeramente” a “no me gusta ni me disgusta” respectivamente para los valores de la escala hedónica presentada.

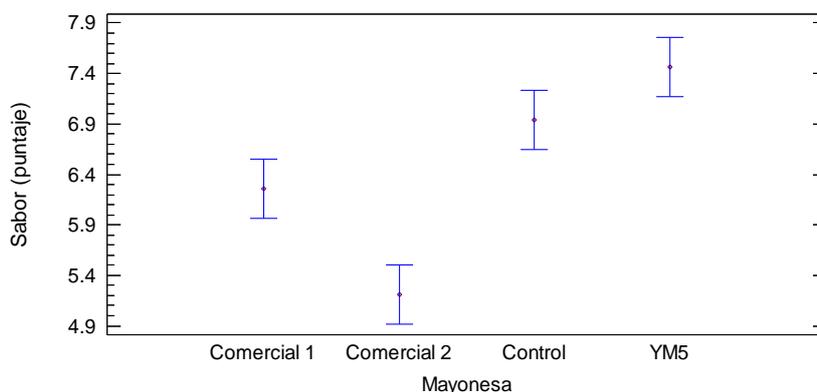


**Figura 18. Puntajes medios para el aroma de las mayonesas.**

(*Comercial 1*, Fanacoa; *Comercial 2*, Mayoliva; *Control*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM5*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).

#### 5.2.4. Sabor

Como puede apreciarse en la figura 19, la valoración de los panelistas para el atributo del sabor fue significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) para las mayonesas elaboradas utilizando BHT (6,9) y extracto de yerba mate (7,5) como antioxidantes, en donde curiosamente, esta última presentó las puntuaciones medias más altas correspondientes al sabor entre las 4 muestras presentadas a los panelistas, pudiéndose decir que la presencia del extracto de *I. paraguariensis* influyó positivamente en el sabor. Mientras que las mayonesas comerciales 1 (6,3) y 2 (5,2) obtuvieron puntajes medios significativamente menores ( $p < 0,05$ ) en la valoración de este atributo.



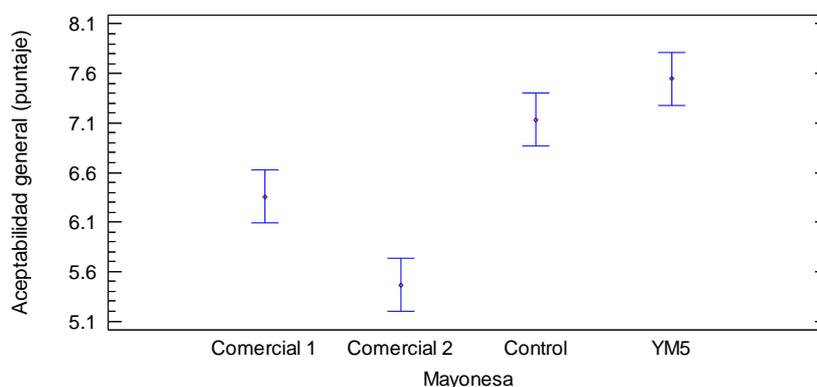
**Figura 19. Puntajes medios para el sabor de las mayonesas.**

(*Comercial 1*, Fanacoa; *Comercial 2*, Mayoliva; *Control*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM5*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).

### 5.2.5. Aceptabilidad General

En la figura 20 se observan las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en la valoración de la aceptabilidad general de las muestras de mayonesa presentadas al panel de degustación, que en cierta manera, engloban los resultados presentados para cada atributo, obteniendo puntajes medios similares a los ya analizados.

Las mayonesas Control y YM5 obtuvieron los puntajes medios significativamente ( $p < 0,05$ ) mayores (7,1 y 7,5 respectivamente), correspondiente a “me gusta moderadamente” según la escala hedónica utilizada, con respecto a las dos muestras comerciales de mayonesa valoradas por los 84 panelistas con una media de 6,4 (“me gusta ligeramente”) para Comercial 1 y 5,5 (“no me gusta ni me disgusta”) para Comercial 2.



**Figura 20. Puntajes medios para la aceptabilidad general de las mayonesas.**

(*Comercial 1*, Fanacoa; *Comercial 2*, Mayoliva; *Control*, mayonesa con una concentración de 0,02% p/p de BHT; *YM5*, mayonesa con extracto de yerba mate a 0,8% p/p de concentración).

YM5 se destacó en prácticamente todos los atributos sensoriales, obteniendo los mayores puntajes medios en comparación a las demás muestras a excepción de la textura en donde la diferencia no fue representativa.

Si bien las diferencias mencionadas en relación a la muestra Control no han sido significativas, las valoraciones para la mayonesa YM5 fueron superiores por lo que se podría decir que la presencia del extracto de yerba mate, en una concentración de 0,8% p/p, influyó de manera positiva en la formulación de mayonesa, realzando el sabor, el color, el aroma y la aceptabilidad general del producto.

Beal *et al.*, (2011) obtuvieron resultados similares (tras la aplicación de una escala hedónica de 9 puntos en una degustación realizada a cuarenta panelistas) sobre salchichas del tipo italiano con la adición de extracto de yerba mate como antioxidante natural (0,4% p/p), en donde los resultados obtenidos demostraron que la adición del extracto como antioxidante natural (7,65) en la formulación de salchichas de no alteró la aceptabilidad sensorial del producto en comparación con la de la formulación con antioxidante artificial (eritorbato 0,2% p/p) (7,73).

En un estudio similar del extracto de yerba mate como antioxidante natural en carnes de pollo en concentraciones de 0,125 y 0,25 % p/p, se realizó una prueba de aceptación del consumidor (utilizando la escala hedónica de 9 puntos a cuarenta panelistas no entrenados), y se comprobó que la presencia del extracto no influyó significativamente en la aceptación general, sin embargo, en este caso, los promedios obtenidos muestran una pequeña tendencia de menor aceptación en las muestras con mayores concentraciones de yerba mate (Camel *et al.*, 2012).

Por otra parte, Raikos *et al.*, (2016) utilizó remolacha procesada (5%) como antioxidante natural en mayonesas y tras realizar una degustación con quince voluntarios aplicando una escala hedónica de 9 puntos, se observó que no existía una diferencia significativa entre los atributos sensoriales de la mayonesa con el extracto y las muestras control, con puntuaciones que iban desde “ni me disgusta ni me gusta” hasta “me gusta moderadamente”, sin embargo la mayonesa formulada con remolacha recibió las puntuaciones más altas.



# **CAPÍTULO IV**

## **CONCLUSIONES**



## CONCLUSIONES

En el presente trabajo se demostró el potencial que presenta el extracto acuoso de yerba mate para su utilización como agente antioxidante de origen natural en la elaboración de mayonesas.

El extracto de *I. paraguariensis* utilizado a concentraciones de 0,4 y 0,8% p/p demostró ser igual de efectivo que el antioxidante sintético BHT para la preservación de la estabilidad fisicoquímica de muestras de mayonesas, evaluado a través de las pruebas índice de acidez, índice de peróxidos, índice de Kreis y parámetros de color *L*, *a* y *b*.

La mayonesa formulada con 0,8% p/p del extracto de yerba mate mostró una estabilidad fisicoquímica durante el almacenamiento comparable a la mayonesa formulada utilizando butilhidroxitolueno (BHT) como antioxidante, con valores de índice de acidez, índice de peróxidos e índice de Kreis que no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras. Este hecho demuestra que el extracto acuoso de yerba mate podría utilizarse como antioxidante natural en alimentos con alto contenido de grasa en sustitución a sus análogos sintéticos, los que presentan efectos no deseados sobre la salud de los consumidores.

Asimismo se observó que la adición de extracto de *I. paraguariensis* en mayonesa no influyó significativamente en los parámetros de color *a* y *b*, respecto a la muestra control del estudio. Sin embargo, la evolución del parámetro *L* a lo largo de la prueba acelerada demostró que las mayonesas formuladas utilizando extractos de yerba mate fueron tornándose más oscuras con el correr de los días, siendo estos cambios significativos respecto a la mayonesa formulada utilizando BHT como antioxidante.

Del mismo modo, los atributos sensoriales de color, aroma, textura, sabor y aceptabilidad general no mostraron diferencias significativas con respecto a la muestra Control con el agregado de BHT. Los puntajes medios obtenidos durante las pruebas sensoriales fueron mayores para la muestra que contenía 0,8% p/p del extracto, incluso comparada con muestras comerciales, lo que demuestra una buena aceptabilidad por parte de los consumidores.

## RECOMENDACIONES

Teniendo en cuenta que no existen límites máximos permitidos para el uso de antioxidantes de origen natural en la formulación de alimentos, se recomienda realizar estudios de la estabilidad fisicoquímica de la mayonesa o productos alimenticios análogos, utilizando concentraciones más altas de extracto de yerba mate como agente antioxidante natural. Es importante destacar que, en el presente estudio los análisis sensoriales realizados demostraron una amplia aceptación de la mayonesa formulada con extracto de yerba mate por parte de los panelistas, con valoraciones superiores a las de la muestra control e incluso a las mayonesas comerciales, lo que respalda aún más esta sugerencia.

Si bien la utilización de mayores concentraciones del extracto acuoso de yerba mate podría influir de manera negativa en la aceptación sensorial del producto debido a modificaciones en el color del mismo, los avances tecnológicos de vanguardia han permitido obtener extractos botánicos decolorados, conteniendo exclusivamente los compuestos bioactivos de las especies vegetales utilizadas para su elaboración. Por este motivo, deberían realizarse estudios que ensayen la posibilidad de obtener este tipo de extractos a partir de yerba mate, para que puedan ser utilizados como agentes antioxidantes alimentarios en alimentos de consumo masivo sin modificar de manera significativa los atributos del producto.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. 2013. Farmacopea Argentina. 7ª ed. Buenos Aires: ANMAT.
- Altunkaya, A. et al., 2013. Oxidative stability and chemical safety of mayonnaise enriched with grape seed extract. *Food & Function*, 4(11), pp.1647-1653. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24064585>.
- Álvarez Lara, O., 2011. Influencia del color en las preferencias de los consumidores. *Revista Observatorio Calasanz*, II(4), pp.228-246.
- Alves Gomes, I. et al., 2017. Ingredients of mayonnaise: Future perspectives focusing on essential oils to reduce oxidation and microbial counts. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion. Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición*, 67(3).
- Badui Dergal, S., 2006. *Química de los Alimentos. cáp. 4, Lípidos*. 4 ta ed. E. Quintanar Duarte, eds., pp. 245-300.
- Barrera-Arellano, D., 1998. Estabilidad y utilización de nitrógeno en aceites y grasas. *Grasas y Aceites*, 49(1), pp.55-63.
- Beal, P., Faion, A.M., et al., 2011. Oxidative stability of fermented Italian-type sausages using mate leaves (*Ilex paraguariensis* St. Hil) extract as natural antioxidant. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(7), pp.703-710. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21591987>.
- Beal, P., Faion, A.M., et al., 2011. Oxidative stability of fermented Italian-type sausages using mate leaves (*Ilex paraguariensis* St . Hil) extract as natural antioxidante. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(7), pp.703-710.
- Bligh, E.G. & Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), pp.911-917.
- Blum-Silva, C.H. et al., 2015. The influence of leaf age on methylxanthines, total phenolic content, and free radical scavenging capacity of *Ilex paraguariensis* aqueous extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25(1), pp.1-6. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2015.01.002>.

- Borda, M. de los A., 2011. *Formulación de un aderezo de ensaladas con características de alimento funcional*. Tesis de Maestría. Universidad Tecnológica Nacional.
- Burris, K.P. et al., 2012. Composition and bioactive properties of yerba mate. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 72(2), pp.268-275.
- Camel, M. et al., 2012. Influência do potencial antioxidante de extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) EM frango assado, armazenado e reaquecido. *Alim. Nutr.*, 23(2), pp.297-305.
- De Campos, R.M.L. et al., 2007. Food Chemistry Fatty acid and volatile compounds from salami manufactured with yerba mate (*Ilex paraguariensis*) extract and pork back fat and meat from pigs fed on diets with partial replacement of maize with rice bran. *Food Chemistry*, 103, pp.1159-1167.
- Cardozo Junior, E.L. & Morand, C., 2016. Interest of mate (*Ilex paraguariensis* A . St . -Hil.) as a new natural functional food to preserve human cardiovascular health – A review. *Journal of Functional Foods*, 21, pp.440-454. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.12.010>.
- Carpenter, Roland P., Lyon, David H., Hasdell, Terry A. 2009. *Análisis sensorial en el desarrollo y control de la calidad de alimentos. cap.3 Cómo utilizar el análisis sensorial para alcanzar el objetivo*. España. Editorial ACRIBIA, S.A. pp. 33-47. ISBN: 978-84-200-0988-9.
- Chun-Ying, L. et al., 2014. Antioxidative effect of purple corn extracts during storage of mayonnaise. *Food Chemistry*, 152, pp.592-596.
- Código Alimentario Argentino. 2017. *cap. 7. Alimentos grasos aceites alimenticios*. Art.528.
- Código Alimentario Argentino. 2018. *cap. 16. Correctivos y coadyuvantes*. Art. 1280.
- Colpo, A.C. et al., 2016. Yerba mate (*Ilex paraguariensis* St . Hill.) -based beverages : How successive extraction influences the extract composition and its capacity to chelate iron and scavenge free radicals. *Food Chemistry*, 209, pp.185-195. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.059>.

- Dean, E.W. & Stark, D.D., 1920. A convenient method for the determination of water in petroleum and other organic emulsions. *The journal of industrial and engineering chemistry*, 12(5), pp.486-490.
- Deladino, L. et al., 2008. Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*. *Carbohydrate Polymers*, 71, pp.126-134.
- Escalada, G., Brumovsky, L.A. & Hartwig, V.G., 2011. Influencia de la zona de cultivo y procesamiento de la yerba mate sobre su contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante. *Revista de Ciencia y Tecnología*, 13(15), pp.66-74.
- Fennema, O.R., 2010. *Química de los alimentos. capítulo 5. Lípidos*. 3.<sup>a</sup> ed. S. Damodaran, K. L. Parkin, & O. R. Fennema, eds., pp. 269-381.
- Ferreira Cuelho, C.H. et al., 2015. Recent advances in the bioactive properties of yerba mate. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(2), pp.375-383.
- Fuentes-Berrio, L., Acevedo-Correa, D. & Gelvez-Ordoñez, V.M., 2015. Alimentos funcionales: impacto y retos para el desarrollo y bienestar de la sociedad colombiana. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 13(2), pp.140-149.
- García, M., Silva, Y. & Casariego, A., 2014. Development of a mayonnaise with chitosan as natural antioxidant. *Food Science and Nutrition*, 26(10), pp.835-843.
- García Baldizón, C. & Molina Córdoba, M.E., 2008. Estimación de la vida útil de una mayonesa mediante pruebas aceleradas. *Ingeniería*, 18(1, 2), pp.57-64. Available at: <http://revista-educacion.ucr.ac.cr/latindex/index.php/ingenieria/article/download/653/714>.
- Ghorbani Gorji, S. et al., 2016. Lipid oxidation in mayonnaise and the role of natural antioxidants: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 56, pp.88-102. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2016.08.002>.
- Hartwig, V.G. et al., 2012. A novel procedure to measure the antioxidant capacity of Yerba maté extracts. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 32(1), pp.126-133.
- Holm, G.E. & Greenbank, G.R., 1923. Quantitative Aspects of the Kreis Test. *Industrial and engineering chemistry*, 15(10), pp.1051-1053.

- Huang, D., Ou, B. & Prior, R.L., 2005. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, pp.1841-1856.
- Jayasekera, S. et al., 2011. Variation in antioxidant potential and total polyphenol content of fresh and fully-fermented Sri Lankan tea. *Food Chemistry*, 125(2), pp.536-541. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.045>.
- Karas, R., Skvarca, M. & Zlender, B., 2002. Sensory Quality of Standard and Light Mayonnaise during Storage. *Food Technol. Biotechnol.*, 40(2), pp.119-127.
- Kishk, Y.F.M. & Elsheshetawy, H.E., 2013. Effect of ginger powder on the mayonnaise oxidative stability , rheological measurements , and sensory characteristics. *Annals of Agricultural Sciences*, 58(2), pp.213-220. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aos.2013.07.016>.
- Kong, J. et al., 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64, pp.923-933.
- Kwon, H., Hyung Ko, J. & Shin, H.-S., 2015. Evaluation of antioxidant activity and oxidative stability of spice-added mayonnaise. *Food Science and Biotechnology*, 24(4), pp.1285-1292. Available at: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84938304883&partnerID=tZOtx3y1>.
- Markowicz Bastos, D.H. et al., 2006. Essential oil and antioxidant activity of green mate and mate tea (*Ilex paraguariensis*) infusions. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, pp.538-543.
- Markowicz Bastos, D.H. et al., 2007. Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts. *Molecules*, 12, pp.423-432.
- Martínez-Tomé, M. et al., 2001. Antioxidant Properties of Mediterranean Spices Compared with Common Food Additives. *Journal of Food Protection*, 64(9), pp.1412-1419.
- Mathias-Rettig, K. & Ah-Hen, K., 2014. El color en los alimentos un criterio de calidad medible Color in food as a measurable quality criterion. *Agrosur*, 42(2), pp.39-48.

- McClements, D.J. & Decker, E.A., 2000. Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions : Impact of Molecular Environment on Chemical. *Journal of Food Science*, 65(8), pp.1270-1282.
- Mehta, B.M. et al., 2018. Evaluation of different methods to monitor primary stage of oxidation of heat clarified milk fat (ghee). *Journal of Food Processing Preservation*, 42, pp.1-8.
- Mercado-Mercado, G. et al., 2013. Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutrición Hospitalaria*, 28(1), pp.36-46.
- Mihov, R. et al., 2012. Evaluation of mayonnaise-like food emulsions with extracts of herbs and spices. *Nutrition and Food Science*, 24(3), pp.191-199.
- Nairne, A. et al., 2013. Concentration of biologically active compounds extracted from *Ilex paraguariensis* St . Hil . by nanofiltration. *Food Chemistry*, 141(1), pp.60-65.
- Negrão-Murakami, A.N. et al., 2016. Influence of DE-value of maltodextrin on the physicochemical properties, antioxidant activity, and storage stability of spray dried concentrated mate ( *Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). *LWT Food Science and Technology*, 79, pp.1-7.
- Nunes, L.G. & Ragagnin De Menezes, C., 2015. Microencapsulação por spray drying dos compostos bioativos do extra- to aquoso de erva mate (*Ilex paraguariensis*) criocentrado. *Ciência e Natura*, 37, pp.18-29.
- Olagnero, G. et al., 2007. Alimentos funcionales : fibra , prebióticos , probióticos y simbióticos. *DIAETA*, 25(121), pp.20-33.
- O'Mahony, Michael. 1986. Sensory Evaluation of food: statistical Methods and procedures. Appendix G. EE.UU. Editorial MARCEL DEKKER, INC. pp.413.
- Ozdemir, N. et al., 2018. Effect of black cumin oil on the oxidative stability and sensory characteristics of mayonnaise. *Journal of Food Science and Technology*, 55(4), pp.1562-1568.
- Patton, S., Keeney, M. & Kurtz, G.W., 1951. Compounds Producing the Kreis Color Reaction With Particular Reference to Oxidized Milk Fat. *Journal of the American oil chemists*, pp.391-393.

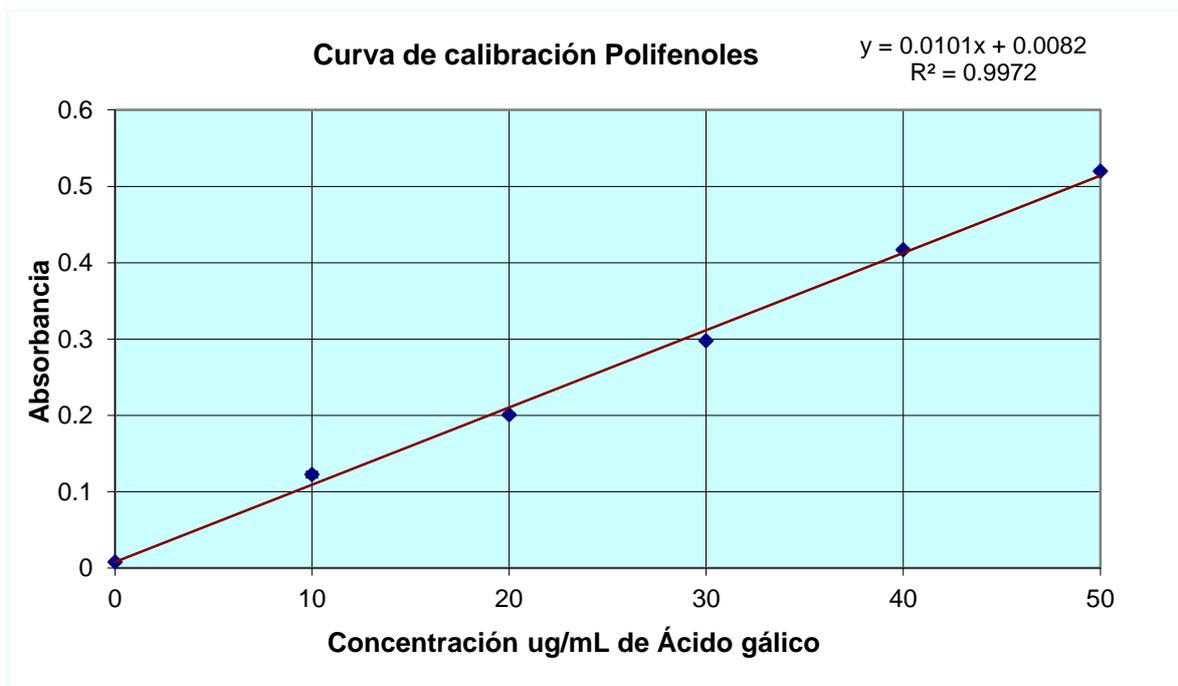
- Peres, R.G. et al., 2013. HPLC-DAD-ESI/MS Identification and Quantification of Phenolic Compounds in *Ilex paraguariensis* Beverages and On-Line Evaluation of Individual Antioxidant Activity. *Molecules*, 18(4), pp.3859-3871.
- Piovezan-Borges, A.C. et al., 2016. Antioxidant potential of yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) extracts in *Saccharomyces cerevisiae* deficient in oxidant defense genes. *Brazilian journal of biology*, 76(2), pp.539-44.
- Preci, D. et al., 2011. Desenvolvimento de iogurte light com extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) e adição de probióticos. *Alim. Nutr.*, 22(1), pp.27-38.
- Puligundla, P., Cho, Y.-H. & Lee, Y.-T., 2015. Physicochemical and sensory properties of reduced-fat mayonnaise formulations prepared with rice starch and starch-gum mixtures. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 27(6), pp.463-468.
- Racanicci, A.M.C., Danielsen, B. & Skibsted, L.H., 2008. Mate (*Ilex paraguariensis*) as a source of water extractable antioxidant for use in chicken meat. *European Food Research and Technology*, 227(1), pp.255-260.
- Rahmati, N.F. et al., 2014. Influence of Selected Gums and Pregelatinized Corn Starch on Reduced Fat Mayonnaise: Modeling of Properties by Central Composite Design Influence of Selected Gums and Pregelatinized Corn Starch on Reduced Fat Mayonnaise: Modeling of Properties by Central . *Food Biophysics*, 10(1), pp.39-50.
- Raikos, V. et al., 2016. Processed beetroot (*Beta vulgaris* L.) as a natural antioxidant in mayonnaise: Effects on physical stability, texture and sensory attributes. *Food Science and Human Wellness*, 5(4), pp.191-198. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fshw.2016.10.002>.
- Ramírez-Nava, J.S., 2012. Análisis sensorial: pruebas orientadas al consumidor. *ReCiTeIa*, 12(1), pp.86-101.
- Rasmy, N.M. et al., 2012. Assessment of the Antioxidant Activity of Sage (*Salvia officinalis* L.) Extracts on the Shelf Life of Mayonnaise. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 7(1), pp.28-40.

- Rincón, F. et al., 2008. Funcionalidad de una mezcla de gomas de Acacia glomerosa, *Enterolobium cyclocarpum* e *Hymenaea courbaril* en la preparación de helados de bajo contenido calórico. *Revista Científica*, 18(1), pp.87-92.
- Roginsky, V. & Lissi, E.A., 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, 92, pp.235-254.
- Rondon, E., Delahaye, E.P. & Ortega, F., 2004. Estimación de la vida útil de un análogo comercial de mayonesa utilizando el factor de aceleración Q 10. *Revista facultad de Agronomía*, 21, pp.68-83.
- Saito, S.T. et al., 2007. Characterization of the Constituents and Antioxidant Activity of Brazilian Green Tea (*Camellia sinensis* var. *assamica* IAC-259 Cultivar) Extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(23), pp.9409-9414.
- Sánchez, I. & Albarracín, W., 2010. Análisis sensorial en carne. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, (51), pp.227-239.
- Statgraphics. (2009). Centurion XV. Statpoint Technologies, Inc. Warrenton VA, U.S.A.
- Veillet, S. et al., 2009. Analytica Chimica Acta New and rapid analytical procedure for water content determination: Microwave accelerated Dean – Stark. *Analytica Chimica Acta*, 632, pp.203-207.
- Zanchett, C.S. et al., 2016. Desenvolvimento de chocolate branco com extrato de erva-mate. *Brazilian Journal of Food Technology*, 19, pp.1-8.
- Zawadzki, A. De et al., 2017. Mate extract as feed additive for improvement of beef quality. *Food Research International*, 99, pp.336-347. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.05.033>.

## ANEXOS

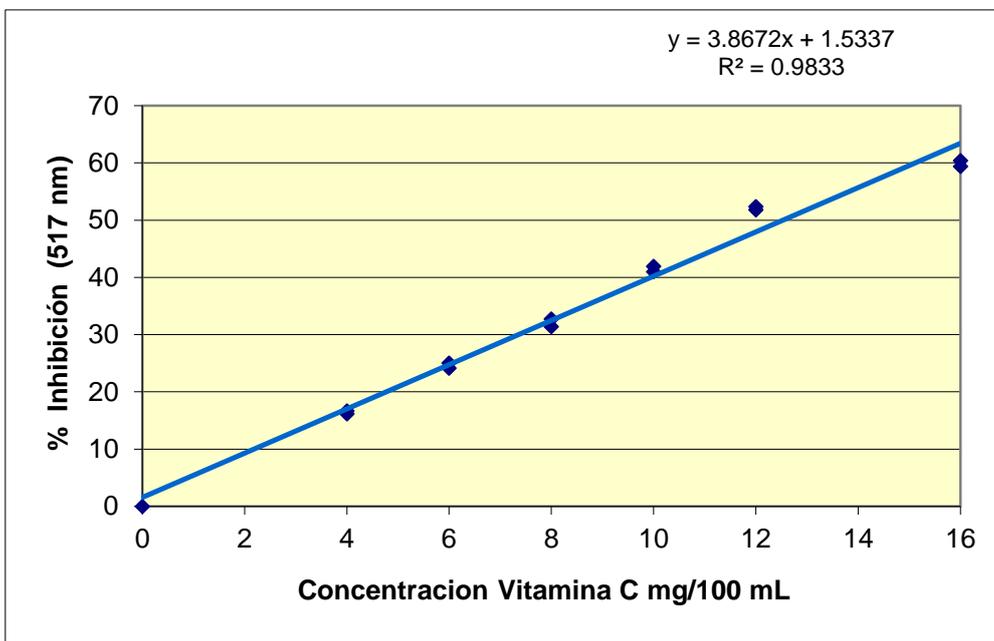
### Anexo A

Curva de calibración del contenido de polifenoles totales



**Anexo B**

Curva de calibración de la capacidad de captación de radical libre DPPH



**Anexo C****Prueba del triángulo**

Ante usted hay tres muestras de mayonesa, pruebe las muestras untando la mayonesa por una criollita y procesada a probarla. Dos de las muestras son iguales y una diferente, indique cuál de las muestras es la diferente colocando el número de la muestra en el cuadro. En caso de no encontrar diferencias coloque uno de ellos al azar e indique más abajo que no ha encontrado diferencias.

**Obs.:**

---

**Gracias!**

### Anexo D

Tabla Para la interpretación de resultados de la prueba triangular.

Número mínimo de juicios correctos necesarios para establecer diferencia significativa para la prueba triangular							
Nº de juicios (n)	Niveles de probabilidad/significancia						
	0.05	0.04	0.03	0.02	0.01	0.005	0.001
5	4	5	5	5	5	5	
6	5	5	5	5	6	6	
7	5	6	6	6	6	7	7
8	6	6	6	6	7	7	8
9	6	7	7	7	7	8	8
10	7	7	7	7	8	8	9
11	7	7	8	8	8	9	10
12	8	8	8	8	9	9	10
13	8	8	9	9	9	10	11
14	9	9	9	9	10	10	11
15	9	9	10	10	10	11	12
16	9	10	10	10	11	11	12
17	10	10	10	11	11	12	13
18	10	11	11	11	12	12	13
19	11	11	11	12	12	13	14
20	11	11	12	12	13	13	14
21	12	12	12	13	13	14	15
22	12	12	13	13	14	14	15
23	12	13	13	13	14	15	16
24	13	13	13	14	15	15	16
25	13	14	14	14	15	16	17
26	14	14	14	15	15	16	17
27	14	14	15	15	16	17	18
28	15	15	15	16	16	17	18

29	15	15	16	16	17	17	19
30	15	16	16	16	17	18	19
31	16	16	16	17	18	18	20
32	16	16	17	17	18	19	20
33	17	17	17	18	18	19	21
34	17	17	18	18	19	20	21
35	17	18	18	19	19	20	22
36	18	18	18	19	20	20	22
37	18	18	19	19	20	21	22
38	19	19	19	20	21	21	23
39	19	19	20	20	21	22	23
40	19	20	20	21	21	22	24
41	20	20	20	21	22	23	24
42	20	20	21	21	22	23	25
43	20	21	21	22	23	24	25
44	21	21	22	22	23	24	26
45	21	22	22	23	24	24	26
46	22	22	22	23	24	25	27
47	22	22	23	23	24	25	27
48	22	23	23	24	25	26	27
49	23	23	24	24	25	26	28
50	23	24	24	25	26	26	28
60	27	27	28	29	30	31	33
70	31	31	32	33	34	35	37
80	35	35	36	36	38	39	41
90	38	39	40	40	42	43	45
100	42	43	43	44	45	47	49

**Fuente:** O'Mahony (1986)

## Anexo E

### EVALUACIÓN SENSORIAL

Ante usted hay cuatro diferentes muestras de mayonesa, pruebe las mismas untando la mayonesa por una criollita y proceda a probarla. Indique su nivel de agrado de acuerdo a la escala que mejor describe su reacción para cada uno de los atributos, colocando el número para indicar su nivel de agrado a cada muestra.

<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>
Me disgusta muchísimo	Me disgusta mucho	Me disgusta moderadamente	Me disgusta ligeramente	No me gusta ni me disgusta	Me gusta ligeramente	Me gusta moderadamente	Me gusta mucho	Me gusta muchísimo

Muestra	Color	Olor	Textura	Sabor	Aceptabilidad general
A					
B					
C					
D					

Comentarios:

---

**Gracias!**