



**Universidad  
Norbert Wiener**

Powered by **Arizona State University**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
PROGRAMA ACADÉMICO DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**Tesis**

Toxicidad potencial in vitro por el método het-cam de bebidas nutracéuticas  
artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima - 2024

**Para optar el Título Profesional de  
Químico Farmacéutico**

**Presentado por:**

**Autora:** Calle Fernández, Estefani

**Código ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-5198-0262>

**Autora:** Flores Isuiza, Patricia

**Código ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-9047-7168>

**Asesora:** Mg. Guadalupe Sifuentes de Posadas, Luz Fabiola

**Código ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-4694-9054>

**Lima – Perú**

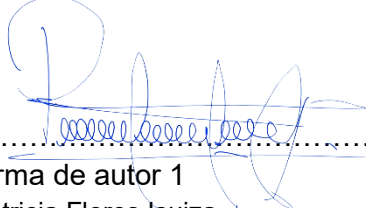
**2025**

 Universidad Norbert Wiener	<b>DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIA Y DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN</b>		
	<b>CÓDIGO: UPNW-GRA-FOR-033</b>	<b>VERSIÓN: 01</b> REVISIÓN: 01	<b>FECHA: 08/11/2022</b>


Yo, FLORES ISUIZA, Patricia y Calle Fernández Estefani egresado de la Facultad de **Ciencias de la Salud** y Escuela Académica Profesional de **Farmacología y Bioquímica** de la Universidad privada Norbert Wiener declaro que el trabajo de investigación "TOXICIDAD POTENCIAL *In Vitro* POR EL MÉTODO HET-CAM DE BEBIDAS NUTRACÉUTICAS ARTESANALES DE CASAS NATURISTAS DEL CERCADO DE LIMA. 2024" Asesorado por el docente: **Mg.** Luz Fabiola Guadalupe Sifuentes de Posadas DNI 07829902 ORCID 0000-0003-4694-9054 tiene un índice de similitud de **11 (once) %** con código oid: 14912:461650564 verificable en el reporte de originalidad del software Turnitin.

Así mismo:


1. Se ha mencionado todas las fuentes utilizadas, identificando correctamente las citas textuales o paráfrasis provenientes de otras fuentes.
2. No he utilizado ninguna otra fuente distinta de aquella señalada en el trabajo.
3. Se autoriza que el trabajo puede ser revisado en búsqueda de plagios.
4. El porcentaje señalado es el mismo que arrojó al momento de indexar, grabar o hacer el depósito en el turnitin de la universidad y,
5. Asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión en la información aportada, por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas del reglamento vigente de la universidad.



Firma de autor 1  
 Patricia Flores Isuiza  
 DNI: 47131794



Firma de autor 2  
 Calle Fernández Estefani  
 DNI: 76073638



Firma  
 Mg. Luz Fabiola Guadalupe Sifuentes de Posadas  
 DNI:07829902  
<https://orcid.org/0000-0003-4694-9054>

Lima, 23 de Mayo de 2025

## DEDICATORIA

A mis amados padres, **Luis y Eloisa**, por ser mi guía, mi ejemplo y mi fortaleza en cada paso de mi vida.

A mi querido esposo, **Frank**, por su amor, apoyo inquebrantable y paciencia infinita. Gracias por creer en mí incluso en los momentos más difíciles y por ser mi compañero en este camino.

Y a mi pequeña **Aitana**, mi más grande inspiración. Que este esfuerzo sea un ejemplo para ti, para que siempre persigas tus sueños con valentía y dedicación.

Con todo mi amor,

**Patricia**

Dedico esta tesis a mis padres **Armando y Teresa** pues sin su apoyo constante no lo hubiera logrado.

Este logro es un reflejo del incansable esfuerzo que han invertido para brindarme una educación sólida.

Mi éxito académico es un reflejo de su amor y guía.

**Estefani**

## AGRADECIMIENTO

A Dios, por ser mi guía constante, por darme la fuerza, y la sabiduría.

A mis maestros, por compartir su conocimiento, por su dedicación y por sembrar en mí el amor por el aprendizaje. Cada lección y cada consejo dejaron una huella importante en mi formación.

A mis compañeros, por el apoyo, las risas, las largas jornadas de estudio y los momentos compartidos.

**Patricia**

Primera mente doy gracias a Dios por permitirme tener una buena experiencia dentro de la universidad.

Gracias a mi familia por apoyarme durante todo este camino, no ha sido sencillo, pero gracias por creer en mí.

He logrado gracias a ustedes concluir con éxito la realización de mi tesis.

**Estefani**

**INDICE GENERAL**

DEDICATORIA .....	iii
AGRADECIMIENTO .....	iv
INDICE GENERAL .....	v
ÍNDICE DE TABLAS .....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN .....	xii
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUCCIÓN .....	xiv
CAPÍTULO I: EL PROBLEMA.....	1
1.1 Planteamiento del problema.....	1
1.2. Formulación del problema .....	3
1.2.1 Problema general.....	3
1.2.2 Problemas específicos .....	3
1.3. Objetivos de la investigación.....	4
1.3.1 Objetivo general .....	4
1.3.2 Objetivos específicos.....	4
1.4. Justificación de la investigación .....	4
1.4.1 Teórica.....	4
1.4.2 Metodológica.....	5

1.4.3 Práctica .....	5
1.5. Limitaciones de la investigación.....	6
1.5.1 Temporal .....	6
1.5.2 Espacial .....	7
1.5.3 Población o unidad de análisis .....	7
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....	9
2.1. Antecedentes .....	9
2.2. Bases teóricas.....	17
CAPITULO III: METODOLOGÍA .....	24
3.1. Método de la investigación .....	24
3.2. Enfoque de la investigación.....	24
3.3. Tipo de investigación.....	24
3.4. Diseño de la investigación .....	25
3.5. Población, muestra y muestreo .....	25
3.6. Variables y operacionalización .....	28
3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	31
3.7.1 Técnica .....	31
3.7.2 Descripción de instrumentos .....	34
3.7.3 Validación .....	36
3.7.4 Confiabilidad.....	36

3.8. Plan de procesamiento y análisis de datos .....	37
3.9. Aspectos éticos.....	37
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	38
4.1 Resultados .....	38
4.1.1 Análisis descriptivo de los resultados .....	38
4.1.2 Discusión de resultados.....	67
CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	71
5.1 Conclusiones.....	71
5.2 Recomendaciones .....	72
REFERENCIAS.....	74
ANEXOS .....	82
Anexo 1: Matriz de consistencia.....	83
Anexo 2: Instrumentos.....	85
Anexo 3: Validez del instrumento .....	90
Anexo 4: Confiabilidad del Instrumento.....	99
Anexo 5: Aprobación del comité de ética.....	100
Anexo 6: Informe del asesor de Turnitin .....	101
Anexo 7: Imágenes (Fotografías).....	102

**ÍNDICE DE TABLAS**

<b>Tabla 1</b> <i>Etapa y descripción de procedimiento de Het-Cam</i> .....	18
<b>Tabla 2</b> <i>Comparación de protocolos de Het-Cam</i> .....	19
<b>Tabla 3.</b> <i>Matriz operacional de la variable 1 Bebida Nutraceutica Artesanal</i> .....	29
<b>Tabla 4.</b> <i>Matriz operacional de la variable 2 Toxicidad (Irritación en la membrana corioalantoidea)</i> .....	30
<b>Tabla 5.</b> <i>Evaluación Regulatoria de bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	38
<b>Tabla 6.</b> <i>Evaluación del color en bebidas nutraceuticas artesanales comercializadas en casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	40
<b>Tabla 7.</b> <i>Evaluación sensorial de la claridad en bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	42
<b>Tabla 8.</b> <i>Intensidad del aroma evaluada sensorialmente en bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	44
<b>Tabla 9</b> <i>Evaluación de la aceptabilidad aromática en bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	46
<b>Tabla 10.</b> <i>Evaluación sensorial del equilibrio de sabores en bebidas nutraceuticas artesanales comercializadas en casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	48
<b>Tabla11.</b> <i>Evaluación sensorial de la intensidad del sabor en bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	50

<b>Tabla12.</b> <i>Evaluación sensorial de la agradabilidad del sabor en bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	52
<b>Tabla13.</b> <i>Evaluación sensorial de la suavidad en boca en bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	54
<b>Tabla 14.</b> <i>Evaluación sensorial de la sensación en boca de bebidas nutracéuticas artesanales provenientes de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	56
<b>Tabla 15.</b> <i>Evaluación de preferencia general de bebidas nutracéuticas artesanales provenientes de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	58
<b>Tabla 16.</b> <i>Evaluación de probabilidad de recomendación de bebidas nutracéuticas artesanales provenientes de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	60
<b>Tabla 17.</b> <i>Proceso de selección y estado de la membrana corioalantoidea antes de la aplicación</i> 62	
<b>Tabla 18.</b> <i>Índice de irritabilidad según ensayo in vitro HET-CAM</i> .....	64
<b>Tabla 19.</b> <i>Categoría irritante según ensayo in vitro HET-CAM</i> .....	65
<b>Tabla 20.</b> <i>Efectos específicos recurrentes según ensayo in vitro HET-CAM</i> .....	67

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Tipos de bebidas Nutraceuticas .....	21
<b>Figura 2.</b> <i>Regulaciones de las bebidas Nutraceuticas</i> .....	22
<b>Figura 3.</b> <i>Principales actividades de las casas naturistas</i> .....	23
<b>Figura 4.</b> <i>Evaluación sensorial del color de bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	41
<b>Figura 5.</b> <i>Evaluación sensorial de la claridad en bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	43
<b>Figura 6.</b> <i>Intensidad del aroma evaluada sensorialmente en bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	45
<b>Figura 7.</b> <i>Evaluación de la aceptabilidad aromática en bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	47
<b>Figura 8.</b> <i>Evaluación sensorial del equilibrio de sabores en bebidas nutraceuticas artesanales comercializadas en casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	49
<b>Figura 9.</b> <i>Evaluación sensorial de la intensidad del sabor en bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	51
<b>Figura 10.</b> ..... <i>Evaluación sensorial de la agradabilidad del sabor en bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	53
<b>Figura 11.</b> <i>Evaluación sensorial de la suavidad en boca en bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	55

<b>Figura 12.</b> <i>Evaluación sensorial de la sensación en boca de bebidas nutracéuticas artesanales provenientes de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	57
<b>Figura 13.</b> <i>Evaluación de preferencia general de bebidas nutracéuticas artesanales provenientes de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	59
<b>Figura 14.</b> <i>Evaluación de probabilidad de recomendación de bebidas nutracéuticas artesanales provenientes de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024</i> .....	61
<b>Figura 15.</b> <i>Estado de la Membrana Corioalantoidea Antes de la Aplicación</i> .....	63
<b>Figura 16.</b> <i>Porcentaje de muestras clasificadas como No Irritante e Irritante Leve</i> .....	66

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar la toxicidad *in vitro* de las bebidas nutracéuticas artesanales expandidas en casas naturistas del Cercado de Lima 2024.

**Metodología:** el método de investigación utilizado fue analítico-descriptivo, el enfoque cuantitativo, el tipo de investigación fue básica de diseño descriptivo. La población de estudio la comprende las bebidas nutracéuticas artesanales de las casas naturista y los consumidores y voluntarios que asisten a esos establecimientos. Para esta parte del análisis se utilizó un formulario de evaluación de análisis sensorial y regulatorio de bebidas artesanales de casas naturistas y un formulario de evaluación de toxicidad *in vitro* (HET-CAM).

**Resultados:** Al determinar la categoría de irritación, de las 20 bebidas analizadas, 9 de ellas reportaron ser No Irritantes ya que estuvieron dentro del rango de 0.00-0.9; 11 de ellas reportaron ser Irritantes Leves ya que estuvieron dentro del rango 1.00-4.9 respectivamente. Al Identificar y describir los efectos específicos más recurrentes solo se pudo apreciar en algunas muestras hemorragia, al determinar la respuesta sensorial, el análisis organoléptico, preferencia y probabilidad de recomendación esta fue alta, al evaluar el cumplimiento de la normativa regulatoria nuestros resultados evidenciaron un cumplimiento del 61% el cual es considerado alto y con un nivel satisfactorio, al evaluar el ensayo *in vitro* de HET-CAM, este método es apropiado para realizar pruebas de índice de irritabilidad

**Conclusiones:** la toxicidad *in vitro* de las bebidas nutracéuticas es nula por lo tanto es apropiada para el consumo de las personas que recurren a ellas con fines medicinales.

**Palabras Clave:** Bebidas Nutracéuticas, HET- CAM, Análisis organoléptico.

## ABSTRACT

**Objective:** To determine the *in vitro* toxicity of artisanal nutraceutical drinks sold in health food stores in Cercado de Lima 2024.

**Methodology:** The research method used was analytical-descriptive, the quantitative approach, the type of research was basic and design descriptive level. The study population includes artisanal nutraceutical drinks from health food stores and consumers and volunteers who attend these establishments. For this part of the analysis, a sensory and regulatory analysis evaluation form for artisanal drinks from health food stores and an *in vitro* toxicity evaluation form (HET-CAM) were used.

**Results:** When determining the irritation category, of the 20 drinks analyzed, 9 of them were reported to be Non-Irritant, since they were within the range of 0.00-0.9; 11 of them were reported to be Mild Irritants since they were within the range 1.00-4.9 respectively. When identifying and describing the most recurrent specific effects, only bleeding could be seen in some samples. When determining the sensory response, organoleptic analysis, preference and probability of recommendation, this was high. When evaluating compliance with regulatory standards, our results showed a compliance of 61%, which is considered high and a satisfactory level. When evaluating the *in vitro* HET-CAM test, this method is appropriate for performing irritability index tests.

**Conclusions:** The *in vitro* toxicity of nutraceutical drinks is null, therefore it is appropriate for consumption by people who use them for medicinal purposes.

**Keywords:** Nutraceutical Beverages, HET-CAM, Organoleptic analysis.

## INTRODUCCIÓN

La creciente demanda de productos saludables en Lima refleja un cambio en los hábitos de consumo, donde los individuos buscan no solo satisfacer su sed, sino también obtener beneficios adicionales para la salud. Las bebidas nutracéuticas, que combinan propiedades funcionales con ingredientes naturales, se alinean perfectamente con esta tendencia. Realizar un estudio exhaustivo permite identificar las preferencias del consumidor y adaptar las formulaciones a sus necesidades específicas; realizar un estudio sobre las bebidas nutracéuticas que se expenden en Lima y que son analizadas mediante el método HET-CAM radica en varios factores clave que impactan tanto la salud pública como el desarrollo del mercado de productos saludables. En un contexto de creciente conciencia sobre la alimentación saludable, las bebidas nutracéuticas se presentan como una opción atractiva para los consumidores.

El método de HET-CAM proporciona una herramienta eficaz para evaluar la seguridad de estas bebidas, al ser un método *in vitro* que permite determinar irritaciones o reacciones adversas sin necesidad de utilizar animales, se convierte en una opción ética y eficiente para garantizar que los productos sean seguros para el consumo humano, esto es especialmente relevante en un mercado donde la confianza del consumidor es fundamental.

En el estudio se desarrolló cinco capítulos distribuidos correctamente de la siguiente forma: En el capítulo I, se explicó el planteamiento del problema, en el capítulo II muestra los antecedentes tanto a nivel nacional como internacional, y las bases teóricas, en el capítulo III, se plantea la metodología de la investigación, en el capítulo IV, se redacta la discusión de los resultados comparando y finalmente, en el capítulo V se detallaron las conclusiones y recomendaciones del estudio.

## **CAPÍTULO I: EL PROBLEMA**

### **1.1 Planteamiento del problema**

En los últimos años, las bebidas nutracéuticas han experimentado un notable auge en popularidad debido a su capacidad para fusionar beneficios alimenticios y terapéuticos. Dentro de este mercado, las bebidas artesanales, elaboradas en pequeñas cantidades con métodos tradicionales y un énfasis en ingredientes naturales, han ganado una considerable aceptación entre los consumidores que buscan alternativas para mejorar su salud y bienestar. En Lima, Perú, este fenómeno se manifiesta en un floreciente mercado de bebidas nutracéuticas artesanales comercializadas principalmente en casas naturistas, las cuales suelen promocionarse por su supuesto valor nutricional y beneficios para la digestión, el incremento de energía o el refuerzo del sistema inmunológico, a menudo mediante la combinación de hierbas, extractos vegetales, vitaminas y minerales (1, 4).

A diferencia de las bebidas nutracéuticas comerciales, producidas a gran escala bajo estándares industriales y regulaciones de etiquetado, las versiones artesanales carecen frecuentemente de una regulación y estándares de producción claros (1, 2). Esta falta de supervisión genera una preocupación significativa sobre su seguridad y potencial toxicidad.

Aunque se perciben como "naturales" y, por ende, inocuas, la combinación de múltiples ingredientes y sus concentraciones pueden no estar exentas de riesgos (4). Muchos compuestos bioactivos presentes en estas bebidas, como polifenoles, alcaloides, saponinas, capsaicina o curcumina, si bien pueden ofrecer propiedades antioxidantes o antiinflamatorias, también tienen el potencial de inducir efectos adversos, particularmente irritación de mucosas sensibles como la gastrointestinal, especialmente en altas concentraciones o en individuos con condiciones preexistentes (6, 7, 8-10, 11).

La ausencia de estudios exhaustivos sobre la toxicidad potencial de estas bebidas artesanales, específicamente mediante ensayos *in vitro* que evalúen efectos a nivel celular y molecular, representa una laguna crítica en la investigación científica (2-3, 4-5). Esta carencia de datos objetivos dificulta la evaluación de los riesgos asociados a su consumo regular y la posible interacción acumulativa de sus componentes.

Para abordar esta problemática, el ensayo de la membrana corioalantoidea de huevo de gallina (HET-CAM) emerge como un método *in vitro* validado para evaluar el potencial de irritación de diversas sustancias. La membrana CAM es altamente vascularizada y responde de forma visible a estímulos irritantes. Si bien la mucosa gástrica humana en condiciones normales difiere en su grado de vascularización superficial, en estados patológicos como gastritis crónica (p.ej., por *Helicobacter pylori*), gastritis atrófica o ectasia vascular antral gástrica (GAVE), la mucosa experimenta procesos inflamatorios que inducen una hipervascularización subepitelial significativa, mediada por factores angiogénicos como el VEGF (12-15). Estas condiciones patológicas, caracterizadas por aumento de permeabilidad capilar, fragilidad vascular y respuesta inflamatoria, presentan similitudes funcionales y anatómicas con la membrana CAM (14, 15). Esta analogía justifica el uso del HET-CAM como un modelo predictivo relevante para estudiar la

posible irritación en mucosas humanas, como la gástrica, que pueden estar frecuentemente expuestas a estas bebidas.

## **1.2. Formulación del problema**

Por lo tanto, el presente estudio, se plantea la interrogante sobre la seguridad de estas bebidas. Específicamente, se busca determinar el potencial de irritación *in vitro* de las bebidas nutraceuticas artesanales expandidas en casas naturistas del Cercado de Lima, utilizando el método HET-CAM. Los resultados de esta investigación contribuirán a llenar un vacío significativo en el conocimiento científico, proporcionando datos objetivos que podrían ser cruciales para futuras regulaciones, recomendaciones de consumo y la protección de la salud pública.

### **1.2.1 Problema general**

¿Qué toxicidad *in vitro* presentan las bebidas nutraceuticas artesanales expandidas en casas naturistas del Cercado de Lima 2024?

### **1.2.2 Problemas específicos**

- ¿Cuál es el índice de irritabilidad según ensayo *in vitro* HET-CAM de bebidas nutraceuticas artesanales de casa naturistas del Cercado de Lima 2024?
- ¿Qué categoría Irritante provoca por el ensayo *in vitro* HET- CAM, las bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima 2024?
- ¿Cuáles son los efectos específicos más recurrentes por el ensayo *in vitro* de HET-CAM como lisis, hemorragia o coagulación, de bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima 2024?
- ¿Cuál es el análisis sensorial de las bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima-2024?

- ¿Qué grado de cumplimiento de la normativa regulatoria tienen las bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima 2024?

### **1.3. Objetivos de la investigación**

#### **1.3.1 Objetivo general**

Determinar que toxicidad *in vitro* presentan las bebidas nutracéuticas artesanales expandidas en casas naturistas del Cercado de Lima 2024.

#### **1.3.2 Objetivos específicos**

- Establecer el índice de irritabilidad de las bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima 2024, evaluado mediante el ensayo *in vitro* de HET-CAM.
- Determinar la categoría de irritación (según las clasificaciones establecidas) que provocan las bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima en 2024, a través de ensayo *in vitro* HET-CAM.
- Identificar y describir los efectos específicos más recurrentes, como lisis, hemorragia o coagulación, que se observan en el ensayo *in vitro* HET-CAM al evaluar bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima 2024.
- Determinar la respuesta sensorial de las bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima 2024.
- Determinar el grado de cumplimiento de la normativa regulatoria en las bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima 2024.

### **1.4. Justificación de la investigación**

#### **1.4.1 Teórica**

Se enfoca en analizar el posible efecto toxicológico de los compuestos bioactivos presentes en las bebidas nutracéuticas artesanales, evaluando si cumplen con los estándares de seguridad propuestos en la literatura científica. Aunque estas bebidas pueden presentar muchos bioactivos de importancia para la salud, las formulaciones y la sinergia de estos puede provocar daños a la salud como es irritabilidad en algunas zonas del tracto digestivo, por ello la importancia de realizar esta investigación.

#### **1.4.2 Metodológica**

La justificación metodológica para emplear la técnica HET-CAM en la evaluación de la irritabilidad de la mucosa de algunas zonas del tracto digestivo se basa en la notable analogía entre las membranas mucosas del ojo y del tracto digestivo. Ambas presentan una vascularización compleja, compuesta por arterias, venas y capilares, que responden a lesiones mediante procesos inflamatorios similares a los observados en membranas mucosas de mamíferos. Esta similitud relativa, permite, con las debidas precauciones, inferir ciertos resultados del HET-CAM hacia la mucosa del tracto digestivo, especialmente en contextos donde se busca una primera aproximación a la irritabilidad inducida por sustancias con potencial contacto oral, esofágico o gástrico. Actualmente no existen estudios reportados que utilicen el HET-CAM para evaluar irritabilidad específicamente en la mucosa del tracto digestivo, por lo que la aplicación de esta técnica en este contexto representa un enfoque pionero y abre una nueva línea de investigación que aportar datos preliminares valiosos para la evaluación de seguridad de productos destinados al consumo humano.

#### **1.4.3 Práctica**

Se centra en evaluar el mercado de bebidas saludables que se encuentra en pleno crecimiento debido a la creciente demanda de opciones naturales y orgánicas por parte de los consumidores. Las bebidas nutracéuticas artesanales ofrecen una alternativa a las bebidas comerciales al utilizar ingredientes locales y métodos tradicionales, lo cual podría influir de manera notable en la salud pública. Realizar un estudio sobre estas bebidas puede proporcionar datos útiles sobre su calidad, seguridad y eficacia, lo que a su vez puede apoyar la certificación y regulación de estos productos.

El estudio puede impulsar la industria de bebidas naturales al proporcionar evidencia científica sobre sus beneficios y seguridad. Esto puede llevar a una mayor aceptación en el mercado, así como a la implementación más optimas en la producción artesanal. Además, los resultados del estudio pueden guiar a los productores en la optimización de sus recetas y procesos de elaboración, mejorando la calidad general del producto.

## **1.5. Limitaciones de la investigación**

### **1.5.1 Temporal**

La investigación estuvo limitada a un período de dos meses, comprendido entre agosto y septiembre de 2024. Este plazo implicó una secuencia de fases que debían cumplirse dentro de un marco temporal propuesto por la universidad.

La Fase de Preparación y Planificación se inició en agosto, en coordinación con el asesor. Esta etapa fue crítica, ya que requirió una cuidadosa organización de los tiempos disponibles.

La Fase de Recolección de Datos se llevó a cabo durante las primeras semanas de septiembre, logrando obtener únicamente las muestras que serían evaluadas.

La Fase de Análisis se realizó en las últimas dos semanas del mismo mes, lo que representó un desafío significativo para el procesamiento y análisis de los resultados.

### **1.5.2 Espacial**

La investigación se limita al Cercado de Lima debido a su alta concentración de casas naturistas, lo que permite un acceso más amplio a bebidas nutracéuticas artesanales. Esta delimitación geográfica se justifica por la densidad poblacional y la diversidad de prácticas y productos presentes en la zona.

No obstante, esta elección podría reducir la representatividad de los resultados en otras áreas geográficas o contextos culturales distintos. Asimismo, al enfocarse exclusivamente en una zona específica, se corre el riesgo de perder la oportunidad de identificar variaciones significativas en la calidad y composición de las bebidas nutracéuticas que pudieran estar presentes en otras regiones.

### **1.5.3 Población o unidad de análisis**

Se llevará a cabo una evaluación de bebidas nutracéuticas de diferentes casas naturistas comercializadas en Cercado de Lima para determinar si las bebidas en forma farmacéutica líquidas presentan toxicidad *in vitro*.

El análisis se realizará utilizando el método **HET-CAM** (prueba del huevo de gallina – membrana corioalantoidea), que es un ensayo *in vitro* que facilita la evaluación de la irritación y la posible toxicidad de los productos.

Este estudio se centrará en las bebidas procedentes tanto de establecimientos formales como informales, con el fin de comparar la seguridad de los productos comercializados en cada tipo de entorno.

## **CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Antecedentes**

#### **Antecedentes nacionales:**

**Celestino y Llacsá** (16) en el año 2018, compararon el nivel de irritación causado por cremas para el contorno de ojos, con y sin registro sanitario, de distintas marcas. Metodología: Se analizaron cinco cremas con R.S y cinco sin R.S, todas adquiridas en el distrito de Lima. Los análisis se llevaron a cabo en la Universidad Norbert Wiener. Se empleó técnicas *in vitro* de Toxicología, donde se evaluó la posible irritación ocular mediante pruebas en la membrana corioalantoidea del huevo de gallina. Los resultados muestran que las cremas sin registro sanitario presentan una alta irritación potencial para el contorno de ojos, con un riesgo del 80% para los usuarios, en cambio; las cremas con R.S presentan una baja irritabilidad, con solo 10%. Conclusión: El usuario debe informarse bien de los productos que adquiere a fin de evitar daño potencial.

**Quispe** (17) en el año 2021 evaluó la toxicidad ocular aguda de diferentes concentraciones de colirios de fluconazol (2 mg/mL, 4 mg/mL, 6 mg/mL y 8 mg/mL) elaborados en el servicio de Farmacia Magistral, utilizando el método HET-CAM. Se utilizaron cien huevos fértiles, adquiridos de una granja especializada en Villa El Salvador, y se incubaron en una incubadora artesanal conforme al protocolo INVITTOX. Los colirios de fluconazol se prepararon en el departamento de Farmacia Magistral del Hospital de Emergencias de Villa El Salvador, y los análisis se realizaron en el laboratorio de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega. La metodología se basa en el protocolo N° 47 del método HET-CAM propuesto por Luepke y validado por la Unión Europea. El estudio experimental calculó el índice de irritación (Irritation Score). Los resultados mostraron que las concentraciones de 2 mg/mL y 4 mg/mL no causaron irritación, clasificándose como no tóxicas, con la concentración de 4 mg/mL como la dosis máxima tolerada sin signos de irritación aguda. En contraste, las concentraciones de 6 mg/mL y 8 mg/mL resultaron en un índice de irritación severo, siendo tóxicas desde un punto de vista toxicológico. Conclusiones: el método de HET- CAM es útil y puede realizarse para muchos más productos y debe ser implementado como prueba de control de calidad.

**Pineda** (18) en el año 2019, Evaluó el efecto irritante *in vitro* del gel elaborado con el extracto acuoso de pitahaya. La muestra se recolectó en Huaral, se elaboró un gel a diferentes concentraciones con el extracto acuoso del mesocarpio de la pitahaya, la actividad irritante fue evaluada por el método de HET-CAM. Todos los estudios se hicieron en la universidad Inca Garcilaso de la Vega. Los resultados demostraron que las formulaciones de gel no mostraron irritación en la membrana corioalantoidea, mientras que los controles basados en hidróxido de sodio y LSS fueron moderada y severamente irritantes. Se concluyó que según el método HET-

CAM, todas las concentraciones del gel de extracto acuoso de pitahaya fueron clasificadas como no irritantes.

### **Antecedentes internacionales:**

**Munieweg (19)** y colaboradores 2023 investigaron y compararon los extractos de fruta de arañá amarillo y rojo (*Psidium cattleianum* Sabine), evaluando sus propiedades fisicoquímicas y diversos efectos biológicos. Sus hallazgos revelaron que estos extractos son ricos en fibra y compuestos fenólicos, demostrando actividad antiproliferativa (especialmente el rojo contra células de cáncer colorrectal HT-29) y una notable acción fungicida contra cepas de *Cándida* spp. Un componente esencial del estudio fue el uso del ensayo HET-CAM para determinar el potencial irritante de los extractos, un paso crítico al considerar su aplicación tópica debido a su bioactividad. Los resultados de dicho ensayo indicaron que los extractos de arañá no eran irritantes, lo que, junto a sus beneficios farmacológicos, llevó a los autores a concluir que estos frutos poseen un futuro prometedor para exploraciones y desarrollos de formulaciones seguras, validando la utilidad del HET-CAM en la evaluación toxicológica de productos naturales.

**Ruscinc (20)** 2024 investigó la seguridad y eficacia tópica de cuatro polifenoles: ácido clorogénico, apigenina, kaempferol y naringenina. Utilizaron el ensayo HET-CAM como un paso crucial para determinar la seguridad *in vitro* inicial, clasificando todos los compuestos como "no irritantes", lo que permitió avanzar con las pruebas de eficacia. Entre los hallazgos más significativos, la naringenina se destacó como el polifenol más prometedor, al demostrar una notable protección antioxidante mediante la reducción de la peroxidación lipídica inducida por UV en el estrato córneo (evaluado por HPLC-TBARS-EVSC) y una superior actividad antiinflamatoria *in vivo* (medida por flujometría láser Doppler). En conclusión, el estudio resaltó la importancia

del HET-CAM para la evaluación de seguridad preliminar y posicionó a la naringenina como un candidato sobresaliente por sus múltiples propiedades beneficiosas para la piel.

**Weimer** et al. (21) 2021 investigaron y compararon el potencial biológico y el perfil de seguridad de los aceites esenciales (AE) de hojas y cáscaras de fruto de *Citrus aurantiifolia*. Encontraron que el AE de las hojas presentaba mayor complejidad química y superior actividad antioxidante y citotóxica *in vitro* en comparación con el AE de las cáscaras. Para evaluar la seguridad y el potencial irritante, aplicaron el ensayo HET-CAM, determinando que ambos AE eran severamente irritantes en forma concentrada. Sin embargo, al ser diluidos a 10 mg/ml, no mostraron irritación, lo que demostró una clara dependencia de la dosis para los efectos toxicológicos. Concluyeron que el HET-CAM fue esencial para establecer este perfil de seguridad y que, en concentraciones adecuadas, ambos AE tienen potencial para aplicaciones nutracéuticas o farmacéuticas.

**Ribeiro** et al. (22) 2023 investigaron los efectos de la incorporación de un biosurfactante producido por *Saccharomyces cerevisiae* URM6670 en las características fisicoquímicas, texturales y sensoriales de galletas y muffins, así como su toxicidad. Para evaluar la seguridad del biosurfactante, se aplicó el ensayo HET-CAM, el cual clasificó al compuesto como un irritante leve, indicando su bajo riesgo para el consumo. Los resultados principales mostraron que la adición del biosurfactante (hasta 1%) mejoró parámetros físicos como el diámetro en galletas y modificó la textura, aumentando la firmeza tanto en galletas como en muffins, además de influir en el contenido de humedad y lípidos. Sensorialmente, los muffins con biosurfactante presentaron una mayor aceptación. El estudio concluyó que este biosurfactante tiene un potencial considerable para su aplicación en productos de panadería, permitiendo incluso la reducción de grasa sin

comprometer significativamente las propiedades del producto final y manteniendo una buena aceptación sensorial.

**Phumat et al. (23)** 2023 investigaron y compararon las actividades antioxidantes y antienvjecimiento de extractos de cáscara de Benincasa hispida (calabaza blanca) obtenidos con diferentes solventes (etanol 95% - B95, etanol 50% - B50, y agua - BW). El extracto B95 demostró el mayor contenido de flavonoides y la actividad antioxidante más prometedora en ensayos DPPH, ABTS e inhibición de peroxidación lipídica. Además, B95 presentó la mayor eficacia antienvjecimiento al inhibir significativamente las enzimas colagenasa y hialuronidasa, resultados respaldados por simulaciones de acoplamiento molecular que identificaron interacciones con compuestos como la rutina. Para evaluar la seguridad de cara a aplicaciones cosméticas, se utilizó el ensayo HET-CAM, el cual determinó que ninguno de los extractos causaba irritación. Concluyeron que los extractos de cáscara de B. hispida, especialmente B95, son ingredientes naturales seguros y eficaces con potencial para la industria alimentaria y cosmética como agentes antioxidantes y antienvjecimiento.

**Corrêa et al. (24)** 2023 investigaron el potencial de los aceites esenciales (AE) de lima y naranja, y su principal componente, el D-limoneno, como inhibidores del SARS-CoV-2. Mediante análisis computacionales, in chemico y de citotoxicidad, determinaron que el D-limoneno es un compuesto prometedor, sin fragmentos mutagénicos o citotóxicos y con similitudes estructurales a la timidina del genoma viral. Los resultados más importantes mostraron que el D-limoneno era el compuesto mayoritario en los AE (naranja 90.90%, lima 54.71%) y que tanto el D-limoneno como los AE presentaron baja citotoxicidad en células MRC-5 y HaCaT. La utilización del ensayo HET-CAM fue crucial para evaluar el perfil de seguridad preliminar, demostrando que los AE y el D-limoneno diluidos no eran irritantes, aunque puros mostraron irritación moderada.

Concluyeron que los AE de lima y naranja son candidatos para futuros estudios anti-SARS-CoV-2, destacando la importancia de los análisis de seguridad como el HET-CAM para evaluar la viabilidad de estos compuestos naturales.

**Semenescu et al. (25)** 2024 investigaron el perfil fitoquímico, antioxidante, antimicrobiano y de seguridad de un extracto metanólico de raíz de *Glycyrrhiza glabra* L. de Rumania. El estudio cuantificó diez fitocompuestos, siendo la glicirricina (13.927 mg/g) y varios flavonoides (como liquiritina) los más relevantes. Se determinó un alto contenido fenólico total (169.83 mg GAE/g) y una significativa actividad antioxidante (79.29% a 1000 µg/mL), junto con actividad antimicrobiana notable contra bacterias Gram-positivas como *S. pneumoniae* y *S. pyogenes*. Crucialmente, el análisis de metales no detectó metales pesados tóxicos, y para evaluar la seguridad tópica, se utilizó el ensayo HET-CAM, el cual demostró que el extracto no es irritante. Concluyeron que el extracto rumano es una fuente segura y rica en glicirricina y polifenoles, con buena tolerabilidad in vivo, recomendándolo para futuras aplicaciones terapéuticas.

**Batista (26)** en el 2011 realizó el estudio titulado Evaluación de la irritabilidad en mucosa del adyuvante AFCO1 por el método de HET-CAM. Metodología: Se utilizó el método HET-CAM para evaluar irritación de la mucosa nasal. Se aplicaron AFCO1 y su diluyente (amortiguador fosfato salino). Como controles positivos se usaron NaOH 0,1 N y SDS 1%. Las sustancias se aplicaron sobre la membrana corioalantoidea y se evaluaron las reacciones de lisis, hemorragia y coagulación a los 5 minutos, además, se realizó un estudio histopatológico para confirmar las observaciones macroscópicas. Resultados: AFCO1 y su diluyente no produjeron hemorragia ni coagulación; solo se observó una lisis ligera a los 5 minutos, el estudio histopatológico confirmó la ausencia de lesiones epiteliales o vasculares significativas en las membranas tratadas con AFCO1. Conclusiones: El adyuvante AFCO1 no produce irritación directa en la mucosa nasal, la

técnica de Het-Cam, demostró ser una herramienta útil y válida para evaluar la irritabilidad de la mucosa nasal.

**Palmeira et al (27)** 2018 Tuvieron como propósito evaluar el potencial irritante de formulaciones para mucosas vaginales mediante el método HET-CAM. Metodología: Se probaron varias formulaciones vaginales comercializadas y un placebo universal clínicamente seguro. Nonoxinol-9 (N-9), conocido irritante vaginal, se utilizó como control positivo en concentraciones de 0.001% a 100%. El método siguió las recomendaciones de ICCVAM (NIH Publication No. 10-7553 – 2010). Resultados: Las formulaciones vaginales estudiadas mostraron bajo potencial de irritación. N-9 fue clasificado como un irritante severo a concentraciones superiores al 2%, consistente con datos clínicos previos.

**Derouiche (28)** en un estudio realizado en Argelia el 2017, propuso la prueba HET-CAM como método de detección del riesgo de irritación ocular de los champús, adaptándola a las condiciones técnicas y reglamentarias de un país en desarrollo como Argelia. Se probaron 6 champús de producción local (4 adultos y 2 para bebés) al 100%, 50%, 25%, 10%, 5%, 2,5% y 1,5%. Se evidenció que el uso de una disolución del 10% clasifica los champús para bebés y adultos en dos categorías diferentes de irritación. Este trabajo concluye indicando que se puede aplicar el método de HET-CAM como referencia para evaluar el riesgo de irritación ocular de los champús para adultos y bebés en países en desarrollo.

**Budai (29)** en Hungría el 2021, comprobó la potencia de irritación ocular de los pesticidas (fungicidas, herbicidas, insecticidas). en esta investigación se empleó el método HET-CAM y el método ICE, se realizó el análisis estadístico comparativo entre ambos métodos. Los resultados del análisis estadístico revelaron una correlación significativa entre los resultados de los ensayos *in vivo* y en HET-CAM (76%). En conclusión, el porcentaje de concordancia entre dos datos *in*

*vitro* puede recomendarse como parte de una batería de pruebas para reducir la experimentación en mamíferos y para limitar o eliminar el dolor y las lesiones infligidas a los animales de experimentación.

**Stable et. al** (30) realizaron en la Cuba el 2021 la caracterización del método de la membrana corioalantoidea del embrión de pollo, a fin de describir el procedimiento y destacar las ventajas de este ensayo como sustituto de los métodos tradicionales con animales. Esta investigación se trató de una revisión bibliográfica con datos obtenidos en PubMed, se analizó el alcance y los fundamentos que respaldan la integración de este método en los modelos experimentales. Los resultados de la revisión documentaria proporcionaron un resumen detallado de los beneficios y la validez del método. Se concluyó que el método de membrana corioalantoidea es una alternativa segura que apoya la implementación de los principios de las "tres erres" (Reemplazar, Reducir, Refinar).

**Madureira** (31) en Brasil el año de 2022, comparó los diferentes protocolos de HET-CAM, (francés y alemán), evaluando el potencial de irritación ocular de los surfactantes. La comparación condujo a la optimización del protocolo francés, generando uno adaptado, para reducir la subjetividad en la evaluación de la prueba, garantizando resultados más precisos y mayor control de calidad. Los resultados de la comparación mostraron que no existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos en los protocolos francés y alemán. Esta investigación concluye indicando que el HET-CAM es capaz de identificar con precisión productos no irritantes y es un gran candidato para ser parte de una estrategia de prueba ascendente, también se puede utilizar en una batería de pruebas para sustituir completamente a los conejos.

## 2.2. Bases teóricas

### HET-CAM

El test de huevo de gallina-Membrana Corioalantoidea (HET-CAM) es un método *in vitro* empleado para determinar la posible irritación de productos químicos y cosméticos. Este ensayo se basa en la observación de los efectos irritantes en la membrana corioalantoidea del huevo de gallina, una estructura que contiene vasos sanguíneos y puede reaccionar a sustancias irritantes (32).

Los principios Básicos de la aplicación del método de HET-CAM se fundamentan en lo siguiente:

Es un modelo Biológico: ya que utiliza huevos de gallina fertilizados, específicamente la estructura conocida como membrana corioalantoidea, una capa que rodea el embrión y que está altamente vascularizada, asimismo, es un método de evaluación ya que las sustancias se aplican a la membrana y se observa la intensidad de respuesta inflamatoria, como hemorragias, lisis vascular y coagulación en un tiempo determinado (33).

Esta técnica novedosa ha sido aplicada a varias actividades analíticas en las cuales se destacan:

A nivel cosmético, empleada para evaluar la seguridad ocular de productos cosméticos como cremas, geles y lociones, a nivel farmacéutico, se utiliza para probar la irritación ocular de ingredientes activos en medicamentos oftálmicos, a nivel químico, se evalúa la irritación ocular potencial de productos químicos industriales y detergentes (34).

Validación de nuevas fórmulas: Empleada para validar la seguridad ocular de nuevos productos y formulaciones, ayudando en la formulación de medicamentos oftálmicos, garantizando que no causen daño ocular. En la adherencia a las normas y regulaciones pertinentes:

El HET-CAM ayuda a cumplir con los requisitos de pruebas de irritación ocular en países que prohíben las pruebas en animales o que exigen métodos alternativos (35).

Las etapas para el desarrollo de este procedimiento se presentan en la tabla siguiente.

**Tabla 1**

*Etapas y descripción de procedimiento de HET-CAM.*

<b>ETAPA</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>
Obtención de Huevos	Se utilizan huevos de gallina fertilizados, adquiridos de granjas especializadas.
Preparación del Huevo	Se realiza una incisión en la cáscara del huevo para exponer la membrana corioalantoidea.
Aplicación de Sustancia	Se aplica la sustancia de prueba sobre la membrana corioalantoidea expuesta.
Observación	Se observa la reacción inflamatoria en la membrana durante un período determinado (generalmente 5 minutos).
Evaluación de Resultados	Se evalúan los efectos visibles como hemorragia, lisis vascular y coagulación para determinar el índice de irritación (36).

Hoy la técnica emplea protocolos estandarizados, pero ya y gracias a que más investigadores la usan se pueden encontrar modificaciones más optimizadas al procedimiento descrito para mejorar la sensibilidad y especificidad del método. Por ello que se está empleando en la Investigación de Nuevos Productos y Evaluación de Ingredientes activos y no activos, estas nuevas técnicas se pueden ver en la Tabla 2 (37).

**Tabla 2**  
*Comparación de protocolos de HET-CAM*

Aspecto	Protocolo A	Protocolo B	Protocolo C
Fuente del Huevo	Granjas comerciales de aves	Granjas especializadas	Granjas de investigación
Preparación del Huevo	Incisión estándar en la cáscara	Incisión con cámara de observación	Incisión asistida por microscopio
Aplicación de Sustancia	Aplicación directa con micropipeta	Aplicación con dispensador controlado	Aplicación con micro dosis
Tiempo de Observación	5 minutos	5-10 minutos	5 minutos
Evaluación de Daños	Hemorragia, lisis vascular, coagulación	Hemorragia, lisis vascular, coagulación	Hemorragia, lisis vascular, coagulación

## RESPUESTA FISIOLÓGICA DEL ESTÓMAGO A COMPUESTOS NUTRACÉUTICOS

El estómago humano posee una estructura funcional altamente especializada, cuya principal función es la digestión química inicial de los alimentos y la protección contra agentes externos potencialmente nocivos. La mucosa gástrica está recubierta por una capa de moco rica en bicarbonato, secretada por células epiteliales, que constituye una barrera protectora contra el ácido clorhídrico y la pepsina (38). Este equilibrio homeostático se mantiene mediante una regulación compleja entre estímulos nerviosos, hormonales y paracrinós.

No obstante, algunos compuestos bioactivos comúnmente incluidos en bebidas nutraceuticas pueden modificar este entorno fisiológico. En particular, sustancias como la

capsaicina, cafeína, polifenoles, curcumina y jengibre presentan actividad biológica intensa sobre la mucosa gástrica.

La capsaicina, componente activo del ají, puede inducir una respuesta bifásica: a bajas dosis tiene efecto gastroprotector al estimular la secreción de moco, mientras que a dosis elevadas provoca vasodilatación, aumento de la permeabilidad capilar y sensación de ardor, lo cual puede desencadenar irritación y daño epitelial gástrico, especialmente en individuos con gastritis previa o hipersensibilidad (39,40).

La cafeína, presente en ingredientes como el guaraná o el té verde, actúa como un estimulante del sistema nervioso central, pero también incrementa la secreción gástrica ácida a través del antagonismo de receptores adenosinérgicos y el estímulo vagal, lo que puede empeorar cuadros de dispepsia o reflujo gastroesofágico (41).

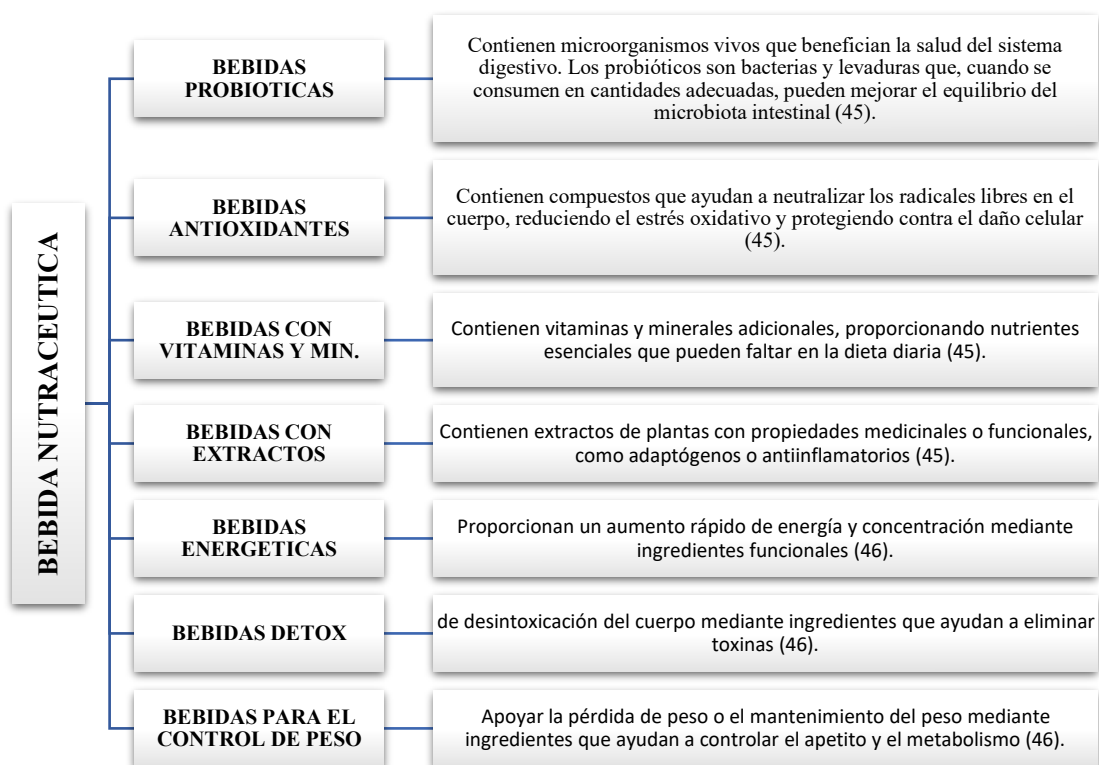
Por su parte, los polifenoles y flavonoides, aunque ampliamente valorados por sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, pueden alterar la mucosa gástrica si se consumen en altas concentraciones o como extractos aislados. Estas moléculas pueden interactuar con proteínas del moco gástrico y modificar el pH local, lo cual afecta la integridad epitelial (42).

La curcumina y los compuestos del jengibre, si bien tienen efectos antiinflamatorios y procinéticos, también han demostrado incrementar la motilidad gástrica o modular la secreción ácida, lo que en ciertos contextos puede resultar irritante o desencadenar molestias abdominales (43,44).

## BEBIDAS NUTRACÉUTICAS:

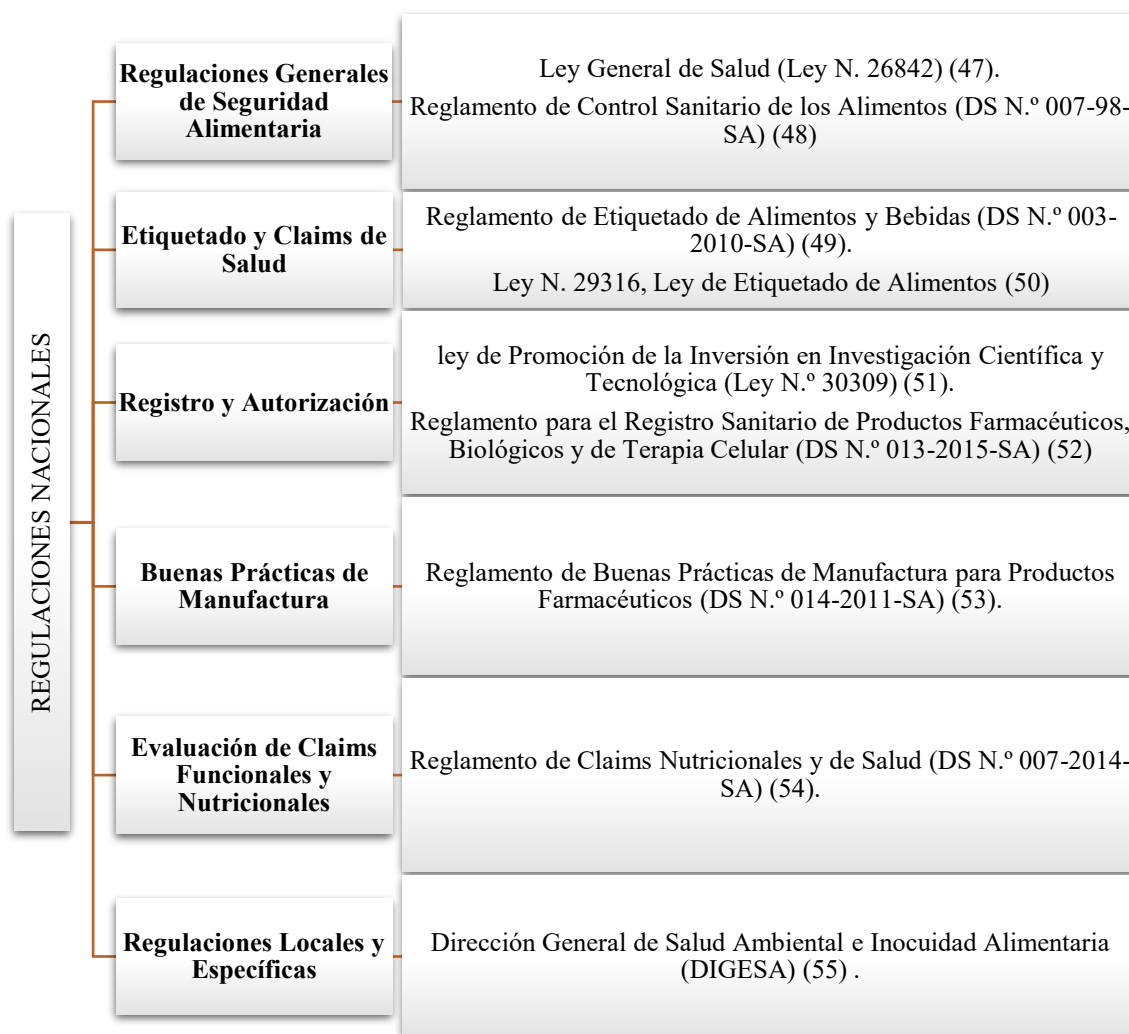
Las bebidas nutraceuticas son bebidas que contienen ingredientes bioactivos que proporciona ventajas para la salud que van más allá de su contenido nutricional básico. La combinación de "nutracéutico" y "bebida" indica que estos productos no solo proporcionan nutrientes esenciales, sino que también tienen propiedades terapéuticas. Estos productos combinan propiedades nutricionales y beneficios terapéuticos. Las bebidas están diseñadas para hidratar y nutrir y para ofrecer beneficios adicionales para la salud, que trascienden la nutrición básica. Existen diferentes tipos de bebidas nutraceuticas que se ofrecen al público de acuerdo con las necesidades de las personas o formulaciones específicas, a continuación, se mencionan los diferentes tipos de bebidas nutraceuticas en la Figura 1.

**Figura 1.**  
*Tipos de bebidas Nutraceuticas*



Las bebidas nutraceuticas, al combinar sustancias alimenticias y productos medicamentosos, deben cumplir con regulaciones específicas que aseguren su seguridad, eficacia, y veracidad de estas, así como el etiquetado. Estas regulaciones varían según el país y las agencias reguladoras correspondientes, en el Perú las regulaciones nacionales pueden ver en la Figura 2.

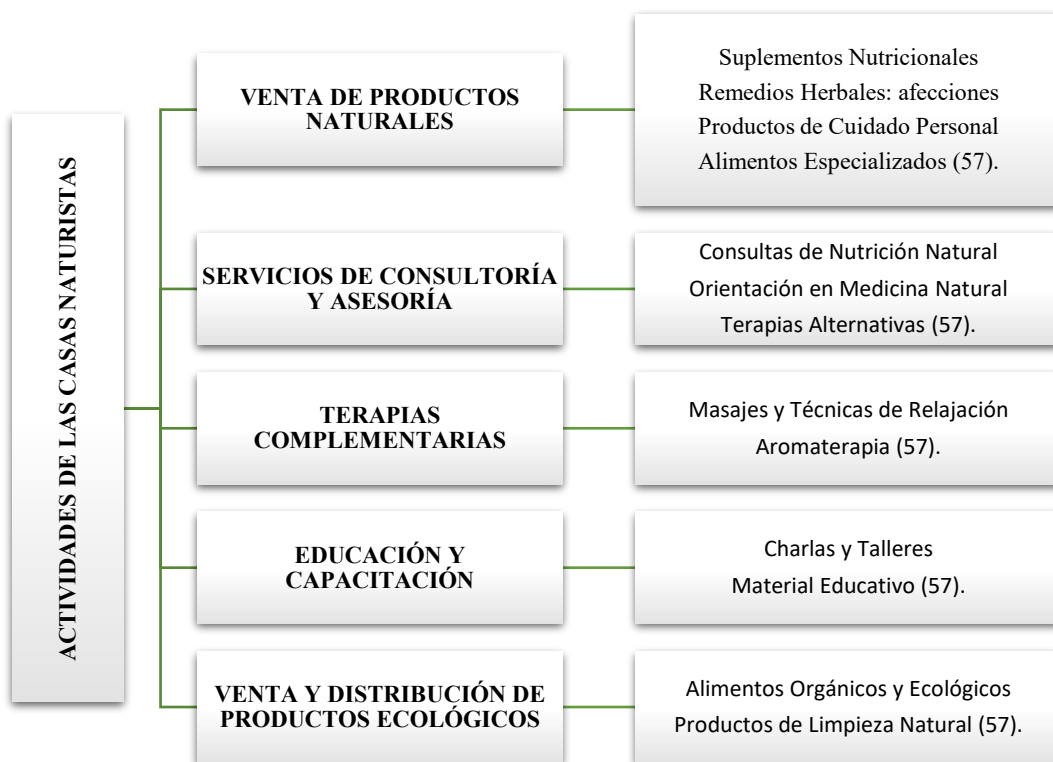
**Figura 2.**  
*Regulaciones de las bebidas Nutraceuticas*



## CASAS NATURISTAS

En Perú, las casas naturistas llevan a cabo una variedad de actividades vinculadas a la promoción de la salud y el bienestar mediante el uso de productos y prácticas basadas en enfoques naturales y complementarios. Las casas naturistas son establecimientos que se especializan en ofrecer productos y servicios relacionados con la medicina y los tratamientos naturales, así como en promover estilos de vida saludables. Estos lugares suelen estar enfocados en la aplicación de terapias alternativas y complementarias a la medicina convencional, utilizando enfoques basados en la naturaleza para potenciar la salud y el bienestar. A continuación, en la Figura 3 se mencionan las principales actividades realizadas por las casas naturistas (56).

**Figura 3.**  
*Principales actividades de las casas naturistas*



## **CAPITULO III: METODOLOGÍA**

### **3.1. Método de la investigación**

Este trabajo aplicó un enfoque analítico-descriptivo, ya que se sigue una secuencia lógica que incluye la observación, recolección de datos, análisis e interpretación de resultados, con el objetivo de describir el grado de irritación de las muestras analizadas; y diseñar un experimento para recolectar, probar, analizar y finalmente sacar conclusiones basadas en los resultados obtenidos (58).

### **3.2. Enfoque de la investigación**

Este trabajo presentó un enfoque cuantitativo, fundamentándose en la medición precisa y numérica de parámetros de irritación, permitiendo una evaluación objetiva y detallada de la irritación, facilitando la comparación entre diferentes muestras y pudiendo proporcionar datos reproducibles basadas en evidencias científicas (59).

### **3.3. Tipo de investigación**

Esta investigación fue de tipo básica ya que se centró en comprender la evaluación de irritación sin una aplicación práctica inmediata. Se enfocó en generar datos fundamentales, que

luego puedan ser utilizados para aplicaciones prácticas en pruebas de seguridad y desarrollo de nuevos estándares (58).

### **3.4. Diseño de la investigación**

El diseño del presente estudio es de tipo no experimental, transversal y descriptivo de laboratorio, con enfoque *in vitro*.

Se considera no experimental, ya que no se manipulan deliberadamente variables independientes, sino que se observa el comportamiento de las muestras en condiciones controladas. El diseño es transversal, dado que la recolección de datos se realizó en un solo momento temporal, sin seguimiento a lo largo del tiempo. Asimismo, es de nivel descriptivo, pues busca caracterizar el grado de irritación potencial de diferentes bebidas nutracéuticas artesanales mediante el método HET-CAM, sin establecer relaciones causales entre variables.

La evaluación se llevó a cabo en un entorno de laboratorio, bajo condiciones *in vitro*, utilizando embriones de pollo en etapa de desarrollo con el fin de observar las reacciones de la membrana corioalantoidea ante la aplicación directa de las muestras (60).

### **3.5. Población, muestra y muestreo**

**Población 1:** bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas que realizan actividades de expendio de productos naturales en el Cercado de Lima.

Criterios de inclusión y exclusión

#### **Criterios de Inclusión**

- Deben contener componentes nutracéuticos reconocidos (antioxidantes, probióticos, etc.).
- Pueden ser producidas de manera semi artesanal.

- Deben incluir una amplia gama de ingredientes (frutas, hierbas, especias).
- Deben tener beneficios para la salud claramente definidos.

### **Criterios de Exclusión**

- No deben contener colorantes, saborizantes o conservantes artificiales.
- Debe limitar las opciones con alto contenido de azúcares añadidos.
- Excluir productos de productores que no den garantías.

**Muestra 1:** correspondió a 20 muestras, tomadas en las primeras dos semanas de septiembre en las casas artesanales naturistas del Cercado de Lima considerados en el análisis por ser el lugar de mayor afluencia de estas casas y el mayor consumo de las personas.

El tamaño de muestra está basado en estudios similares.

### **Muestreo 1:**

Primero, se realizó un recorrido por las diferentes casas naturistas para identificar las bebidas disponibles. A partir de este recorrido, se elaboró una lista, la cual dependió de los recursos y tiempos disponibles de los investigadores. Se identificaron 40 bebidas, se seleccionó un 50% para su análisis. La selección de las muestras se llevó a cabo mediante un generador de números aleatorios en línea. Los números generados se ingresaron en el sistema y, utilizando la función de generación de números aleatorios de manera imparcial, se seleccionaron las bebidas correspondientes que formaron parte de la muestra.

**Población 2.** Los consumidores de bebidas nutracéuticas artesanales de casa naturistas que realizan actividades de expendio de productos naturales en el Cercado de Lima.

**Criterios de inclusión:**

- Entre 18 y 60 años, para garantizar estabilidad en la percepción sensorial.
- Personas sin enfermedades crónicas ni problemas digestivos que puedan alterar la evaluación sensorial.
- Consumidores regulares de productos nutracéuticos (al menos una vez al mes).
- Participantes interesados en bebidas funcionales.
- Compromiso para asistir a las sesiones de prueba.

**Criterios de exclusión:**

- Alergias alimentarias a cualquier ingrediente de las bebidas.
- Condiciones médicas o enfermedades que afecten el gusto, olfato o digestión.
- Embarazo o lactancia se excluyen por posible alteración en la percepción sensorial.
- Fumadores activos ya que el tabaquismo altera el gusto y olfato.

**Muestra 2:** Se seleccionó una muestra de 80 consumidores para participar en el estudio, representando la población objetivo de usuarios de bebidas nutracéuticas, este número pareció ser el apropiado ya que después de depurar aquellas encuestas que no cumplen con la información debida por ello que finalmente nos quedamos con 50 datos limpios.

**Muestreo 2:**

Dado que se seleccionaron participantes basados en criterios específicos (inclusión/exclusión), utilizamos un muestreo por conveniencia (no probabilístico).

### 3.6. Variables y operacionalización

**Variable independiente:** Bebida nutracéutica artesanal.

**Definición conceptual:** Son bebidas artesanales elaboradas con ingredientes naturales y sin conservantes industriales. Son más locales y menos industriales que las bebidas comerciales.

**Definición operacional:** En esta investigación, las bebidas nutracéuticas artesanales coinciden con 20 muestras de casas naturistas del Cercado de Lima, recolectadas durante las dos primeras semanas de septiembre, que fueron sometidas a análisis de toxicidad mediante el método experimental en la membrana corioalantoidea de huevos fértiles de gallina.

**Variable dependiente:** Toxicidad (Irritación en la membrana corioalantoidea).

**Definición conceptual:** Se refiere a la potencial capacidad de las bebidas nutracéuticas artesanales para generar una reacción de irritación en la membrana corioalantoidea.

**Definición operacional:** La toxicidad o irritación se determinó evaluando las reacciones en la membrana corioalantoidea de huevos fértiles de gallina expuestos a las muestras de bebidas artesanales. Se registraron los tiempos de aparición, en segundos, de indicadores de irritación como hemorragia, lisis y coagulación.

## VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN

Tabla 3.

*Matriz operacional de la variable 1 Bebida Nutraceutica Artesanal*

Dimensiones	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala valorativa	Escala de medición de variable
Tipo de exposición	Cualquier sustancia (bebida nutraceutica artesanal, control positivo o negativo) aplicada sobre la membrana corioalantoidea.	Aplicación de 0.5ml de la muestra de bebida nutraceutica artesanal, control positivo y negativo sobre la membrana.	1. Bebida nutraceutica artesanal 2. Control positivo 3. Control negativo	Categorica 1 = Bebida nutraceutica artesanal 2 = Control positivo 3 = Control negativo	Categorica nominal 1 - 3
Análisis Sensorial	El análisis sensorial es una disciplina que se encarga de evaluar, medir e interpretar las respuestas humanas a las propiedades de los productos percibidas por los sentidos (vista, olfato, gusto, tacto y oído).	Corresponde al procedimiento para evaluar los productos en base a los órganos de los sentidos con la finalidad de reconocer alguna cualidad en el producto.	Sabor Aroma Color Apariencia Textura	Escala Hedónica	Categorica ordinal  - Muy desagradable - Desagradable - Neutral - Agradable - Muy agradable
Evaluación Regulatorio	Es un proceso sistemático mediante el cual una autoridad reguladora examina y valora el cumplimiento de un producto, medicamento, dispositivo médico, o cualquier otro bien o servicio con las normativas y requisitos legales establecidos.	Es el procedimiento que se realizará con la finalidad de reconocer si los productos cumplen con todos los requisitos que la ley solicita.	Nombre de la Bebida Tipo Marca Lugar de producción Concentración Lote Fecha de elaboración Fecha de vencimiento Laboratorio Registro Valor nutricional Contenido de alcohol	Documento regulatorio	Grado de Cumplimiento:  Muy Bajo Bajo Medio Alto Muy Alto

Tabla 4.

*Matriz operacional de la variable 2 Toxicidad (Irritación en la membrana corioalantoidea)*

<b>Dimensiones</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Escala valorativa</b>	<b>Escala de medición de variable</b>
Efecto sobre la membrana corioalantoidea	Reacción visible en la membrana corioalantoidea, como hemorragia, lisis y coagulación.	Observación directa de la membrana corioalantoidea después de aplicar la sustancia.	Hemorragia Lisis Coagulación	No Irritante Irritante leve Irritante moderado Irritante severo	Categórica ordinal Puntuación: 0 – 0.9 Puntuación: 1.0 – 4.9 Puntuación: 5.0 – 8.9 Puntuación: 9.0 – 21.0
Tiempo Aparición de Efectos	Tiempo transcurrido para la aparición de signos visibles de irritación en la membrana corioalantoidea.	Tiempo desde la aplicación de la bebida hasta la observación de efectos como hemorragia o lisis en la membrana.	Tiempo hasta la aparición de la hemorragia. Tiempo hasta la aparición de lisis. Tiempo hasta la aparición de coagulación.	0-5 minutos 0-5 minutos 0-5 minutos	Categórica ordinal Escala de tiempo en segundos (0-300)

### 3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

#### 3.7.1 Técnica

Se aplicó como técnica la observación, como instrumento, el Formulario de Evaluación de Toxicidad potencial *In Vitro* para Bebidas Nutracéuticas por el Método HET-CAM.

#### **PRUEBA DE ÍNDICE DE IRRITABILIDAD**

El objetivo principal de la prueba de índice de irritación fue medir y clasificar la severidad de la irritación que una sustancia provoca. Esto ayuda a determinar el potencial irritante de un producto o sustancia, facilitando su evaluación para la seguridad en su uso.

#### **Procedimiento:**

**Preparación de la Muestra:** La sustancia a evaluar se usó tal cual se encuentra en los envases y presentaciones dirigidos a los consumidores (Una única concentración) y se aplicó sobre el tejido o membrana biológica correspondiente. En el caso del HET-CAM, se utilizó la membrana corioalantoidea del huevo de gallina.

**Aplicación:** La sustancia se aplicó en una cantidad estandarizada (0.5ml) sobre la superficie del tejido o membrana durante un tiempo determinado.

**Observación:** Se observó y registró los efectos de la irritación, como hemorragia, lisis vascular y coagulación. Estas observaciones se realizaron durante un periodo específico, 5 minutos después de la aplicación.

**Evaluación:** Se midió el tiempo (segundos) de aparición de cada tipo de efecto (hemorragia, lisis vascular, coagulación).

**Cálculo del Índice de Irritación:** Los resultados de la observación se convirtieron en una puntuación numérica mediante una fórmula estandarizada que combinó las severidades de los diferentes tipos de efectos observados.

**Clasificación:** El índice de irritación obtenido se utilizó para clasificar la sustancia en categorías de irritación, tales como no irritante, irritante leve, irritante moderado o irritante severo.

### **Fórmula Utilizada**

La fórmula para calcular el índice de irritación fue:

$$I.I = ((301 - TH)/300 \times 5) + ((301 - TL)/300 \times 7) + ((301 - TC)/300 \times 9)$$

Donde:

- I.I = Índice de Irritación
- TH = Tiempo de aparición de Hemorragia (segundos).
- TL = Tiempo de aparición de Lisis (segundos).
- TC = Tiempo de aparición de Coagulación (segundos).

La prueba de índice de irritación proporciona datos cuantitativos sobre la irritabilidad de una sustancia, permitiendo a los investigadores y reguladores evaluar su seguridad para el uso en productos como cosméticos, medicamentos y productos de cuidado personal, etc. Esta evaluación es crucial para cumplir con las normativas de seguridad y proteger la salud de los consumidores (61).

## ESCALA VALORATIVA DEL INDICE DE IRRITABILIDAD POR EL METODO DE HET-CAM

### **No Irritante (N.I)**

**Puntuación:** 0 – 0.9

**Descripción:** No se observa hemorragia, lisis o coagulación en la membrana. No hay signos de irritación o daño significativo.

### **Irritante Leve (I.L)**

**Puntuación:** 1.0 – 4.9

**Descripción:** Se presenta una leve opacidad de la membrana o una muy ligera hemorragia. Daño superficial sin lisis importante.

### **Moderadamente Irritante (M.I)**

**Puntuación:** 5.0 – 8.9

**Descripción:** Se observan signos claros de hemorragia, lisis parcial y coagulación de la membrana corioalantoidea. El daño es moderado y persistente.

### **Severamente Irritante (S.I)**

**Puntuación:** 9.0 – 21.0

**Descripción:** Daño evidente con hemorragia extensa, lisis completa de la membrana y coagulación generalizada. Irritación severa que podría predecir efectos nocivos en mucosas o tejidos altamente irrigados.

Cada uno de estos parámetros se valoró según el tiempo en segundos en el que aparecieron, y la puntuación total se calculó mediante la fórmula estandarizada. El resultado final se interpretó utilizando la escala anteriormente descrita.

### **3.7.2 Descripción de instrumentos**

El instrumento se diseñó con las siguientes partes:

#### **A. Ficha de recolección de muestra (para bebidas nutracéuticas)**

Este instrumento fue utilizado para documentar las características de cada bebida nutracéutica artesanal recolectada.

#### **Datos para recolectar:**

- Nombre de la Bebida
- Tipo
- Marca
- Lugar de producción
- Ingredientes
- Concentración
- Lote
- Fecha de elaboración
- Fecha de vencimiento

- Laboratorio
- Registro
- Valor nutricional
- Contenido de alcohol
- Modo de uso
- Recomendaciones
- Garantía
- Envase

## **B. Cuestionario dirigido a los consumidores**

Este cuestionario se aplicó a los consumidores y/o demás voluntarios para obtener información adicional sobre las preferencias de las bebidas nutracéuticas.

## **C. Planilla de registro de resultados del ensayo HET-CAM**

Esta planilla fue utilizada para anotar los resultados obtenidos tras aplicar el método HET-CAM a cada muestra.

- **Datos del análisis HET-CAM:**
  - Código de la muestra.
  - Tiempo de exposición.
  - Resultados de toxicidad: Tiempo de aparición:
    - Daño vascular (hemorragias).
    - Daño a la membrana corioalantoidea (lisis o coagulación).
  - Observaciones adicionales (descripción de los daños observados en la membrana).
  - Fotografía del resultado (si se cuenta con medios visuales).

## **D. Procedimiento del estudio**

1. **Recolección de muestras:** Se visitaron las casas naturistas seleccionadas en el Cercado de Lima para recoger las bebidas nutracéuticas.
2. **Aplicación del cuestionario:** Los consumidores, clientes o voluntarios.
3. **Análisis en laboratorio:**
  - Las bebidas fueron sometidas a pruebas de toxicidad mediante el método HET-CAM en laboratorio controlado.
  - Se utilizaron huevos fecundados y se evaluó el impacto de las muestras sobre la membrana corioalantoidea.
  - Los resultados fueron registrados en las planillas correspondientes.

### **3.7.3 Validación**

El instrumento utilizado en esta investigación fue validado mediante juicio de expertos. Este proceso incluyó la revisión exhaustiva por parte de profesionales con experiencia y conocimientos relevantes en el área de estudio. Los expertos evaluaron la claridad, relevancia y adecuación de cada ítem del instrumento, asegurando así su idoneidad para medir la variable de interés de manera precisa y confiable.

### **3.7.4 Confiabilidad**

En cuanto a los instrumentos para medir la toxicidad, no fue necesario su evaluación porque la propia técnica es validada y si se realiza de manera correcta minimiza los errores y sesgos, maximizando la validez interna de los resultados obtenidos. En relación con los datos producidos por el cuestionario de medición de aceptabilidad, dada su escala ordinal, se utilizó el Alfa de Cronbach sobre una muestra piloto de 8 consumidores.

### **3.8. Plan de procesamiento y análisis de datos**

Para el procesamiento, los datos obtenidos en la prueba de toxicidad fueron ingresados y analizados en el programa IBM SPSS Statistics versión 28.0. Para el análisis descriptivo, se utilizaron tablas y gráficos para la representación de los resultados.

### **3.9. Aspectos éticos**

El presente trabajo, priorizó principios éticos fundamentales, para asegurar protección y respeto de la información. Si es necesario, se procederá con una divulgación responsable de los resultados, siempre cumpliendo con los estándares de rigor y honestidad científica. Estos principios éticos no solo cumplen con las normas generales de investigación, sino que también se alinean con las directrices específicas de la Universidad Norbert Wiener, según los artículos 7 y 8 del Reglamento del Código de Ética para la Investigación. Dichos artículos subrayan la importancia de mantener altos estándares éticos a lo largo de todas las fases del proceso investigativo, desde la planificación hasta la publicación de los hallazgos. Los investigadores están comprometidos a seguir estas directrices y asumen la total responsabilidad por cualquier incumplimiento, sometiéndose a las sanciones que la universidad pueda imponer en tales casos.



<b>Ingredientes</b>	SI	SI	SI	SI	SI	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	SI
<b>Concentración</b>	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	SI
<b>Lote</b>	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<b>Fecha de elaboración</b>	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	SI	SI	SI	SI	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
<b>Fecha de vencimiento</b>	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<b>Laboratorio</b>	SI	SI	SI	SI	SI	SI	NO	NO	NO	NO	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<b>Registro</b>	SI	SI	SI	SI	SI	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI
<b>Valor nutricional</b>	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO
<b>Contenido de alcohol</b>	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	SI	SI	SI	SI	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO
<b>Modo de uso</b>	SI	SI	SI	SI	SI	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<b>Recomendaciones</b>	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	SI
<b>Garantía</b>	SI	SI	SI	SI	SI	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	SI	SI	SI	SI
<b>Envase</b>	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<b>% De cumplimiento</b>	76%	76%	76%	76%	76%	76%	47%	35%	41%	41%	47%	47%	59%	65%	53%	59%	59%	59%	76%	82%
<b>Grado</b>	A	A	A	A	A	A	M	B	M	M	M	M	M	A	M	M	M	M	A	MA
<b>Nivel de cumplimiento</b>	S	S	S	S	S	S	P	D	P	P	P	P	S	S	P	P	P	P	S	MS

*Nota.* La tabla presenta el cumplimiento de la evaluación regulatoria realizada a cada muestra (Bebida Nutracéutica Artesanal) de casas naturistas del Cercado de Lima. Donde A= Alto, B= Bajo, M = Medio, MS= Muy Alto, S = Satisfactorio, P = Parcial, D= Deficiente y MS= Muy Satisfactorio

## Análisis sensorial de las bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima-2024

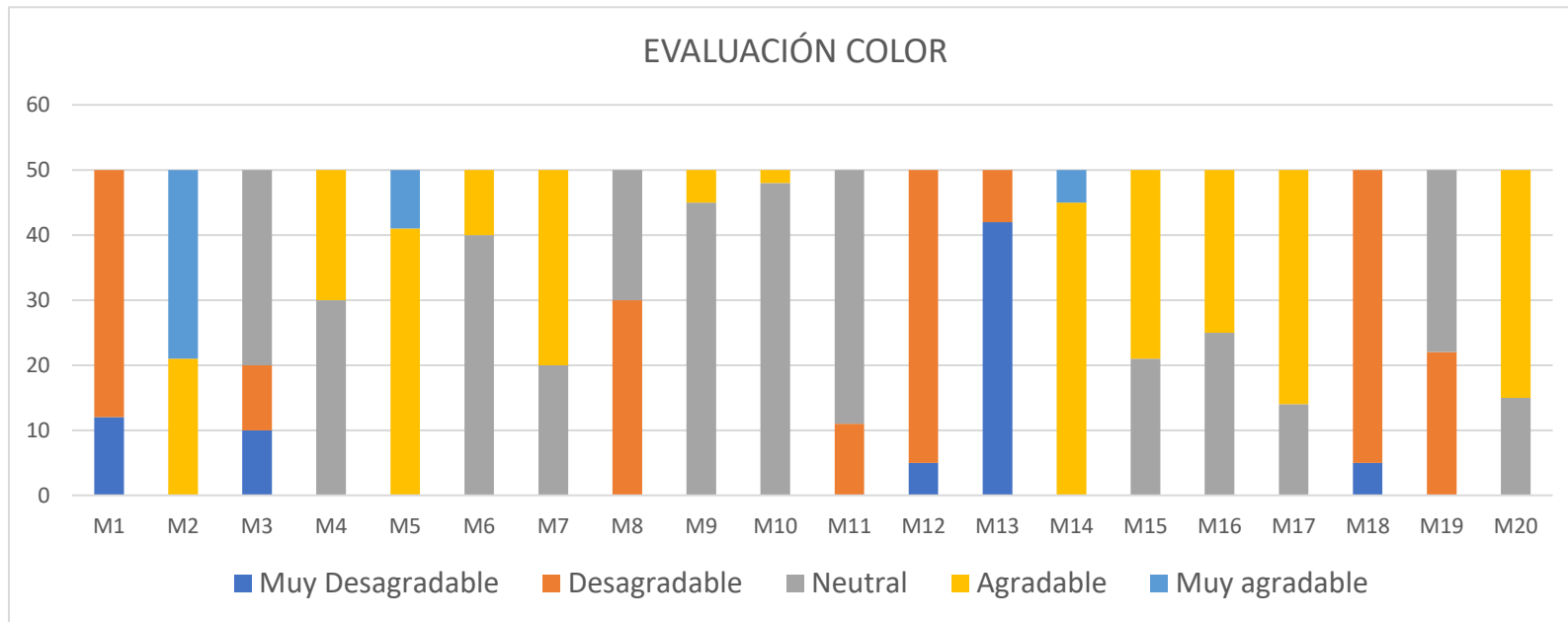
Tabla 6.

*Evaluación del color en bebidas nutracéuticas artesanales comercializadas en casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*

PARAMETRO	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20
<b>COLOR</b>																				
Muy Desagradable	12	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	5	42	0	0	0	0	5	0	0
Desagradable	38	0	10	0	0	0	0	30	0	0	11	45	8	0	0	0	0	45	22	0
Neutral	0	0	30	30	0	40	20	20	45	48	39	0	0	0	21	25	14	0	28	15
Agradable	0	21	0	20	41	10	30	0	5	2	0	0	0	45	29	25	36	0	0	35
Muy agradable	0	29	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0
Total	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

*Nota.* La tabla presenta los resultados de la evaluación sensorial del **color** de 20 muestras (M1 a M20) de bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima. Cada fila de la tabla indica la cantidad de personas que asignaron una determinada valoración a cada muestra.

**Figura 4.**  
*Evaluación sensorial del color de bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*



**Interpretación:**

Los resultados muestran una gran variabilidad en la aceptación del color entre las diferentes muestras evaluadas, lo que sugiere diferencias significativas en los procesos de elaboración, ingredientes o presentación de las bebidas nutracéuticas artesanales comercializadas en el Cercado de Lima.

Tabla 7.

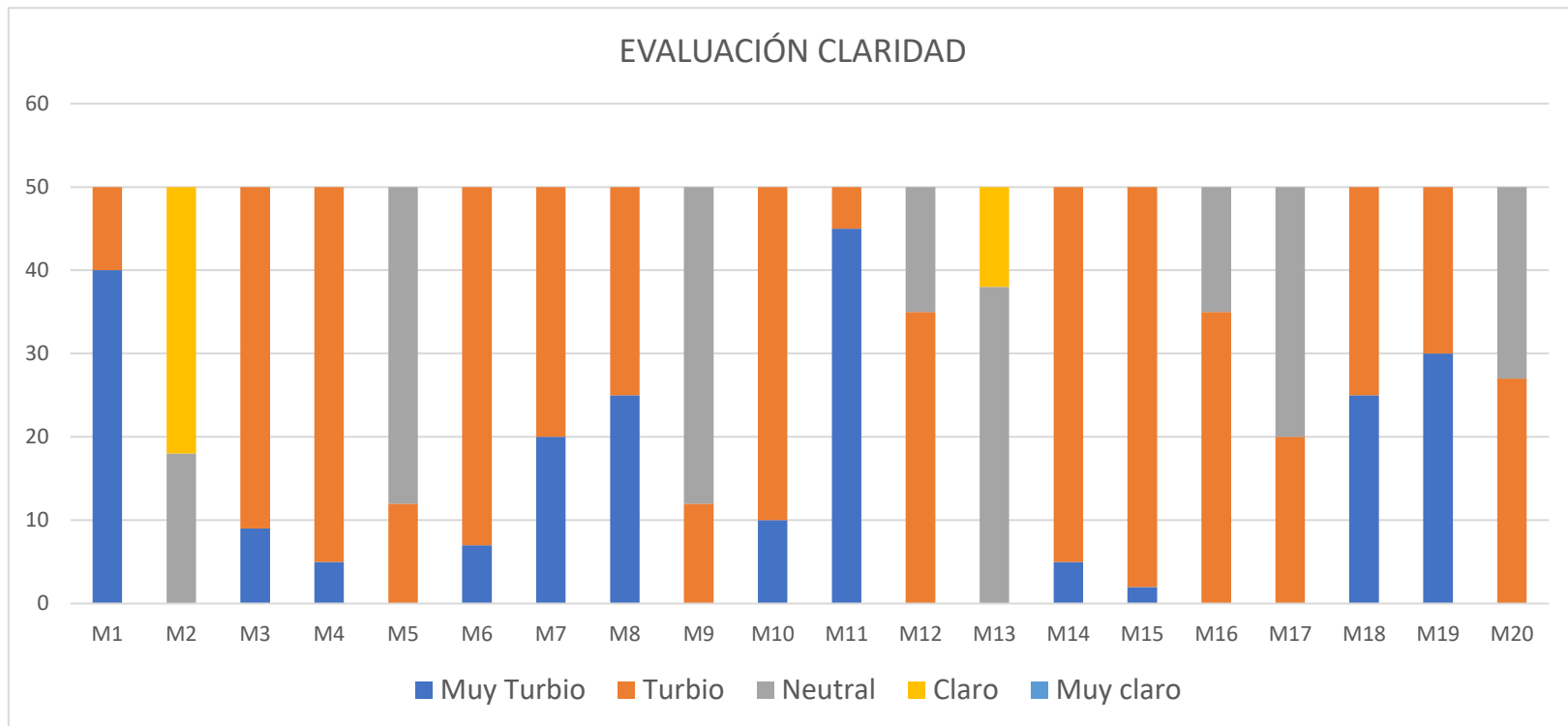
*Evaluación sensorial de la claridad en bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*

PARAMETRO	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20
<b>CLARIDAD</b>																				
Muy Turbio	40	0	9	5	0	7	20	25	0	10	45	0	0	5	2	0	0	25	30	0
Turbio	10	0	41	45	12	43	30	25	12	40	5	35	0	45	48	35	20	25	20	27
Neutral	0	18	0	0	38	0	0	0	38	0	0	15	38	0	0	15	30	0	0	23
Claro	0	32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	0
Muy claro	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

*Nota.* La tabla muestra los resultados obtenidos en la evaluación sensorial del parámetro claridad en 20 muestras (M1 a M20) de bebidas nutracéuticas artesanales recolectadas en casas naturistas del Cercado de Lima.

**Figura 5.**

*Evaluación sensorial de la claridad en bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*



#### Interpretación:

En conjunto, los resultados reflejan una tendencia general hacia la turbidez o baja claridad en las bebidas analizadas, lo cual puede influir en la percepción del consumidor y está posiblemente ligado a la composición natural y la falta de procesos de filtración industrial.

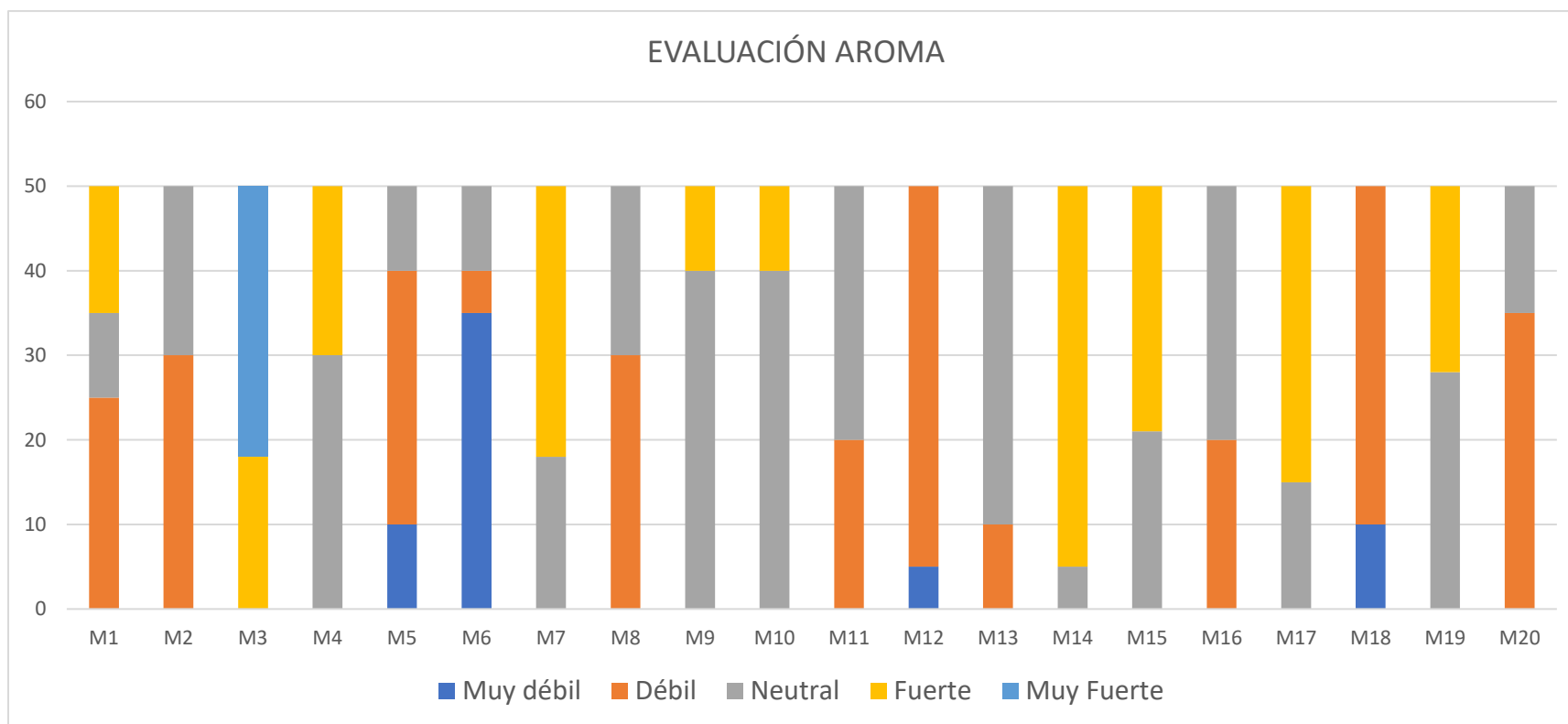
Tabla 8.

*Intensidad del aroma evaluada sensorialmente en bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*

PARAMETRO	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20
<b>AROMA</b>																				
Muy débil	0	0	0	0	10	35	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	10	0	0
Débil	25	30	0	0	30	5	0	30	0	0	20	45	10	0	0	20	0	40	0	35
Neutral	10	20	0	30	10	10	18	20	40	40	30	0	40	5	21	30	15	0	28	15
Fuerte	15	0	18	20	0	0	32	0	10	10	0	0	0	45	29	0	35	0	22	0
Muy Fuerte	0	0	32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

*Nota.* La tabla muestra los resultados de una evaluación sensorial del aroma en 20 muestras de bebidas nutracéuticas artesanales provenientes de casas naturistas del Cercado de Lima

**Figura 6.**  
*Intensidad del aroma evaluada sensorialmente en bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*



Interpretación:

En conjunto, los resultados indican que la mayoría de estas bebidas presentan aromas neutros a débiles, lo que puede responder tanto a las preferencias de los productores como a la naturaleza de los ingredientes empleados.

Tabla 9

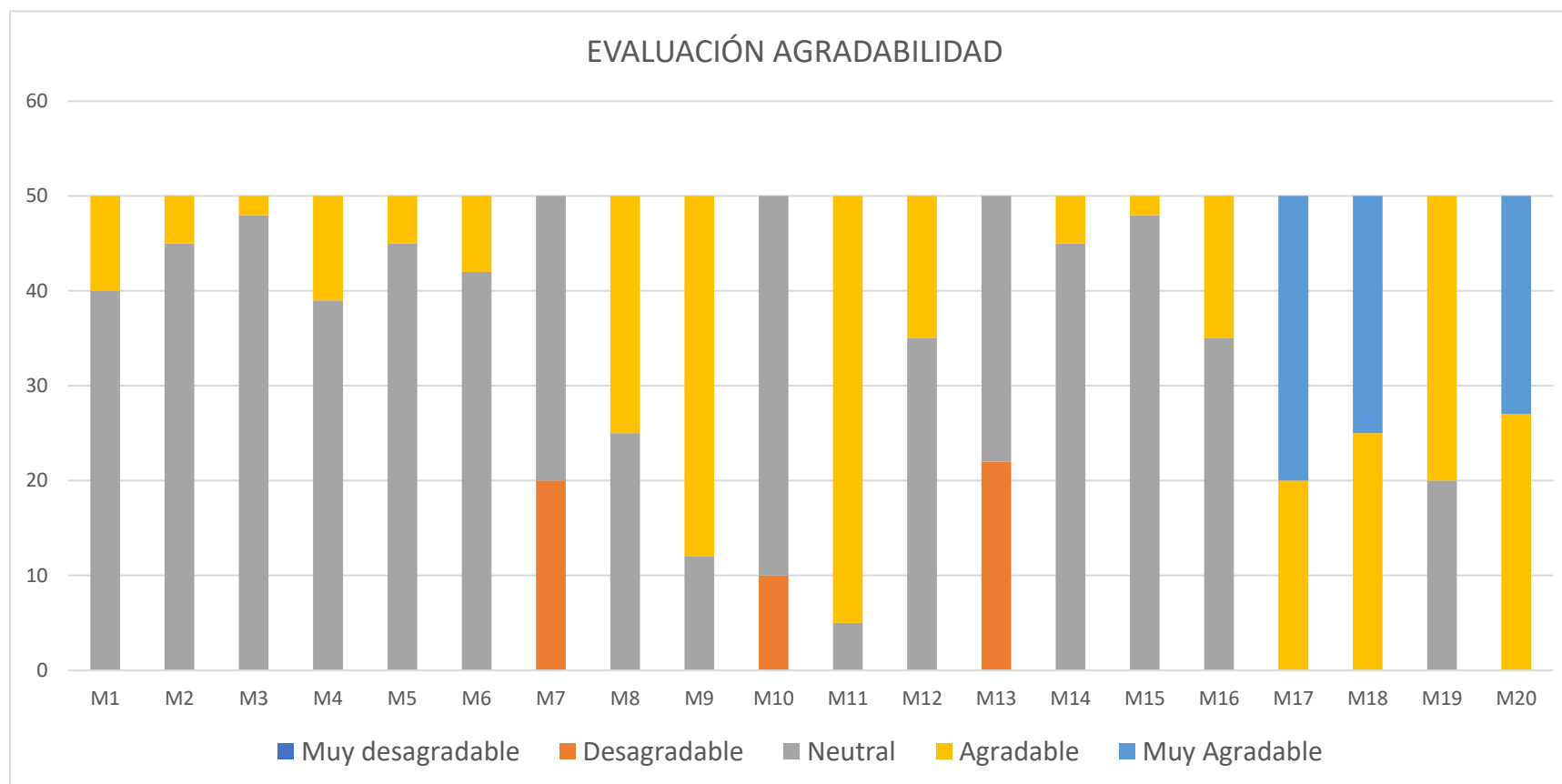
*Evaluación de la aceptabilidad aromática en bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*

PARAMETRO																				
AGRADABILIDAD	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20
Muy desagradable	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Desagradable	0	0	0	0	0	0	20	0	0	10	0	0	22	0	0	0	0	0	0	0
Neutral	40	45	48	39	45	42	30	25	12	40	5	35	28	45	48	35	0	0	20	
Agradable	10	5	2	11	5	8	0	25	38	0	45	15	0	5	2	15	20	25	30	27
Muy Agradable	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	30	25	0	23
Total	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

*Nota.* La tabla presenta los resultados de una evaluación sensorial realizada a 20 muestras (M1 a M20) de bebidas nutraceuticas artesanales, recolectadas de casas naturistas del Cercado de Lima. El parámetro evaluado fue la agradabilidad del aroma.

**Figura 7.**

*Evaluación de la aceptabilidad aromática en bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*



Interpretación:

La evaluación muestra una tendencia general hacia la neutralidad en la percepción aromática de las bebidas nutracéuticas, con pocas muestras destacando negativamente.

Tabla 10.

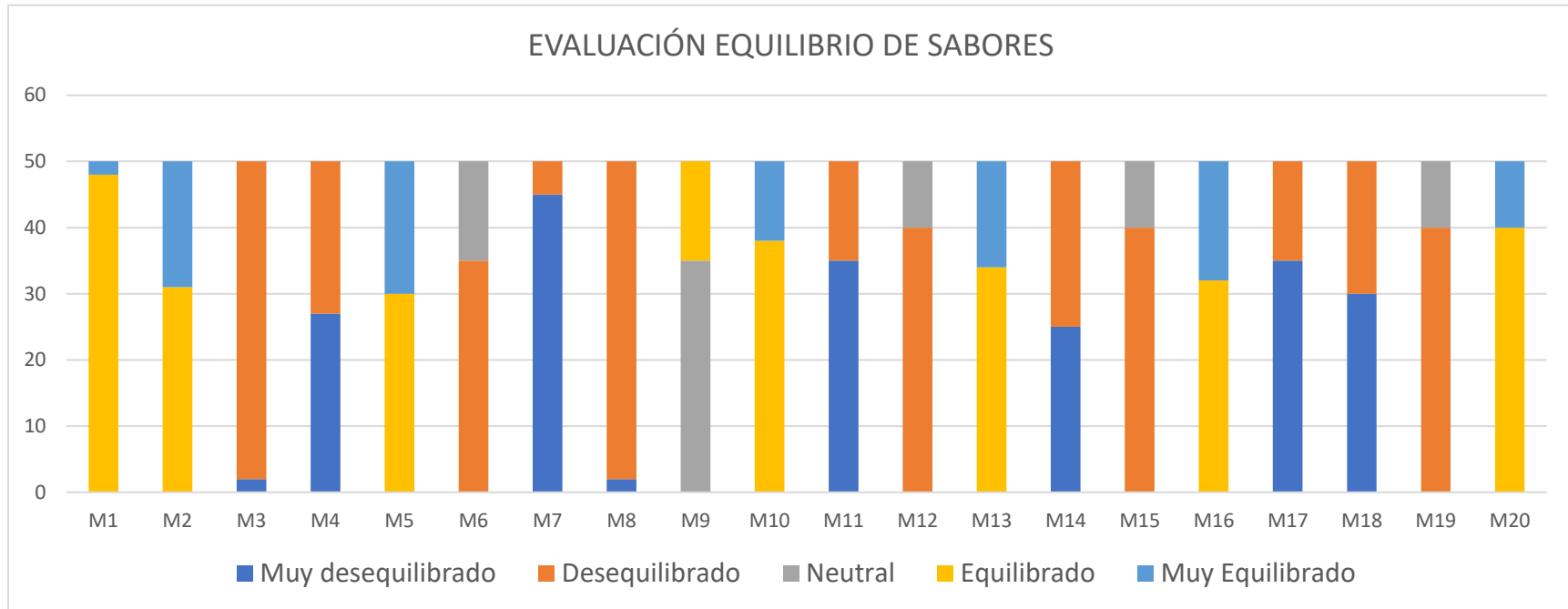
*Evaluación sensorial del equilibrio de sabores en bebidas nutracéuticas artesanales comercializadas en casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*

PARAMETRO	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20
<b>EQUILIBRIO DE SABORES</b>																				
Muy desequilibrado	0	0	2	27	0	0	45	2	0	0	35	0	0	25	0	0	35	30	0	0
Desequilibrado	0	0	48	23	0	35	5	48	0	0	15	40	0	25	40	0	15	20	40	0
Neutral	0	0	0	0	0	15	0	0	35	0	0	10	0	0	10	0	0	0	10	0
Equilibrado	48	31	0	0	30	0	0	0	15	38	0	0	34	0	0	32	0	0	0	40
Muy Equilibrado	2	19	0	0	20	0	0	0	0	12	0	0	16	0	0	18	0	0	0	10
Total	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

*Nota.* La tabla muestra los resultados de la evaluación sensorial del equilibrio de sabores en 20 muestras (M1–M20) de bebidas nutracéuticas artesanales, recolectadas de casas naturistas del Cercado de Lima el 2024.

**Figura 8.**

*Evaluación sensorial del equilibrio de sabores en bebidas nutracéuticas artesanales comercializadas en casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*

**Interpretación:**

La evaluación sensorial del equilibrio de sabores en bebidas nutracéuticas artesanales comercializadas en el Cercado de Lima revela una heterogeneidad significativa en la calidad sensorial percibida. Solo una parte de las muestras logró alcanzar un perfil sensorial equilibrado, lo que refleja que no todas las formulaciones artesanales cumplen con parámetros óptimos de balance de sabor, pese a su comercialización.

Tabla 11.

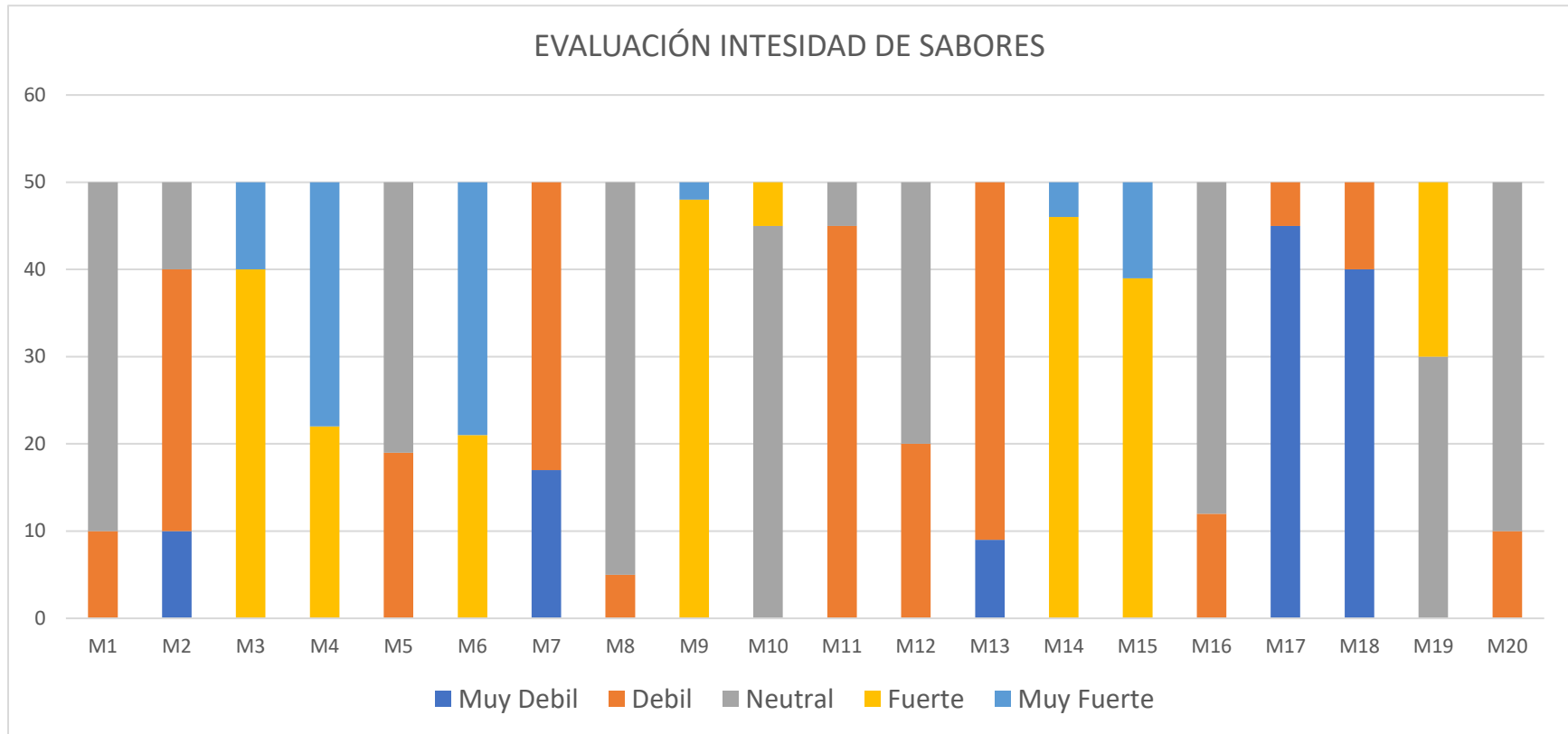
*Evaluación sensorial de la intensidad del sabor en bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*

PARAMETRO																				
INTENSIDAD	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20
DE SABORES																				
Muy débil	0	10	0	0	0	0	17	0	0	0	0	0	9	0	0	0	45	40	0	
Débil	10	30	0	0	19	0	33	5	0	0	45	20	41	0	0	12	5	10	0	10
Neutral	40	10	0	0	31	0	0	45	0	45	5	30	0	0	0	38	0	0	30	40
Fuerte	0	0	40	22	0	21	0	0	48	5	0	0	0	46	39	0	0	0	20	0
Muy Fuerte	0	0	10	28	0	29	0	0	2	0	0	0	0	4	11	0	0	0	0	0
Total	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

*Nota.* La tabla muestra los resultados de la evaluación sensorial de la intensidad del sabor en 20 muestras (M1–M20) de bebidas nutracéuticas artesanales, recolectadas de casas naturistas del Cercado de Lima el 2024.

**Figura 9.**

*Evaluación sensorial de la intensidad del sabor en bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*



Interpretación:

En general, los resultados reflejan una amplia variabilidad en la percepción de la intensidad del sabor entre las diferentes muestras, lo cual podría atribuirse a factores como la formulación específica, el tipo y concentración de ingredientes útiles.

Tabla 12.

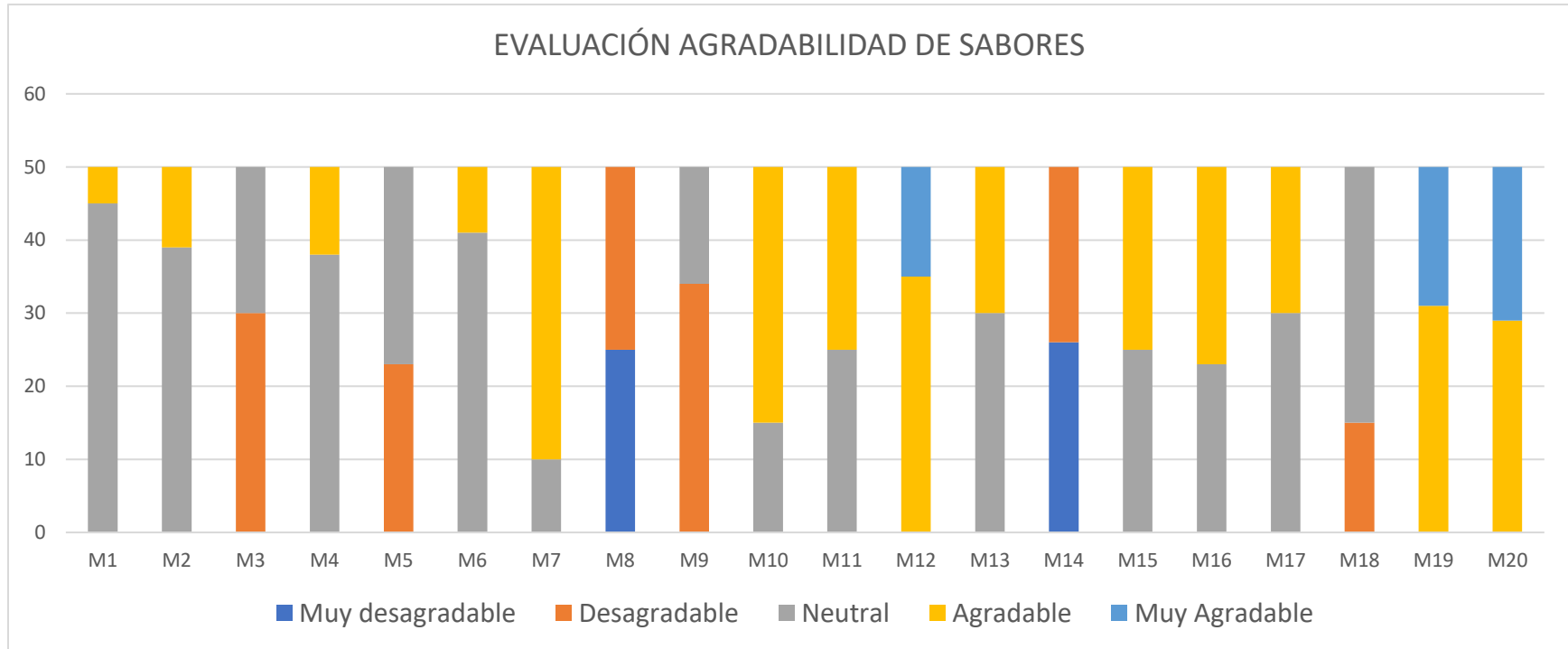
*Evaluación sensorial de la agradabilidad del sabor en bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*

PARAMETRO																				
AGRADABILIDAD DE SABOR	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20
	Muy desagradable	0	0	0	0	0	0	0	25	0	0	0	0	0	26	0	0	0	0	0
Desagradable	0	0	30	0	23	0	0	25	34	0	0	0	0	24	0	0	0	15	0	0
Neutral	45	39	20	38	27	41	10	0	16	15	25	0	30	0	25	23	30	35	0	0
Agradable	5	11	0	12	0	9	40	0	0	35	25	35	20	0	25	27	20	0	31	29
Muy Agradable	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	0	0	0	0	0	0	19	21
Total	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

*Nota.* La tabla muestra los resultados de la agradabilidad del sabor en 20 muestras (M1–M20) de bebidas nutracéuticas artesanales, recolectadas de casas naturistas del Cercado de Lima el 2024.

**Figura 10.**

*Evaluación sensorial de la agradabilidad del sabor en bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*



**Interpretación:**

La evaluación sensorial de la agradabilidad del sabor revela una amplia variabilidad en la percepción del sabor entre las 20 muestras analizadas. Predominan las calificaciones "Neutral" y "Agradable", aunque algunas muestras presentan niveles significativos de rechazo ("Desagradable" o "Muy desagradable").

Tabla 13.

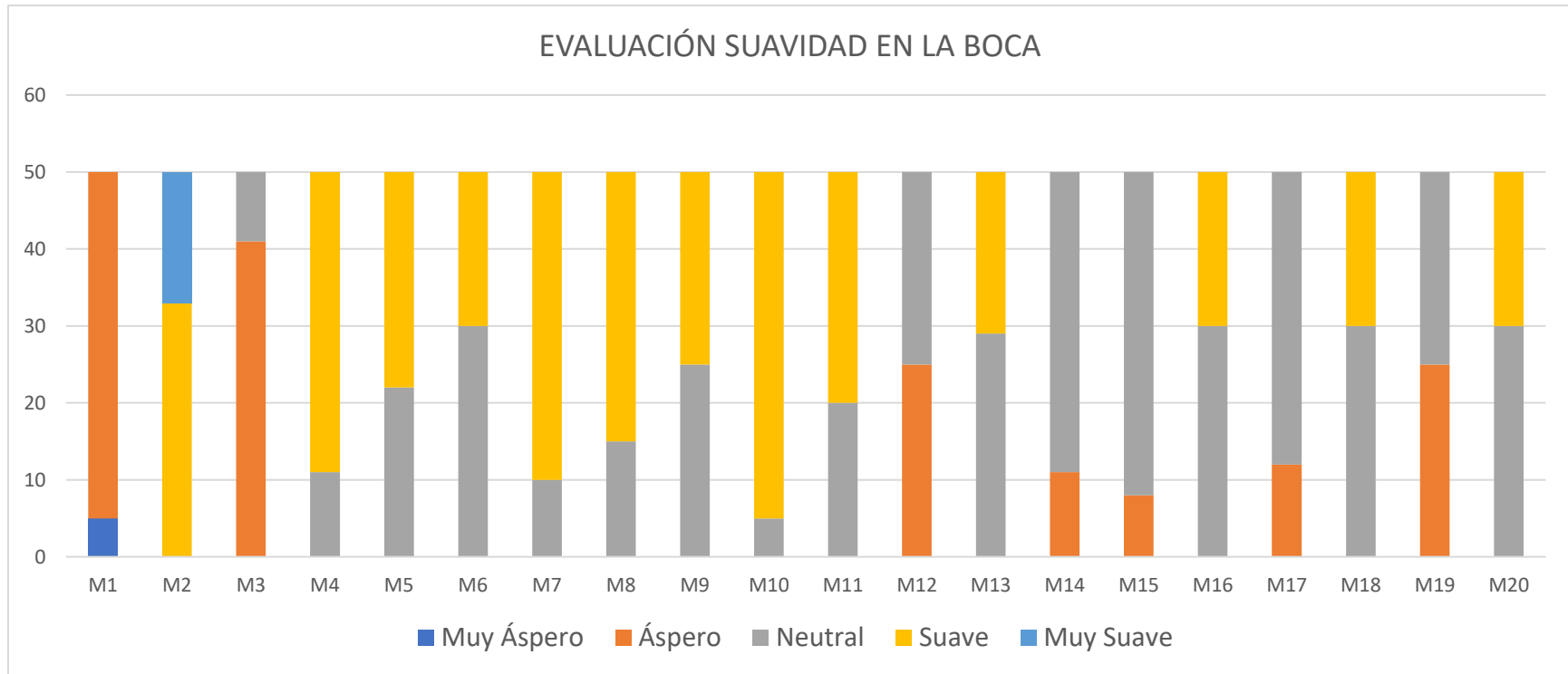
*Evaluación sensorial de la suavidad en boca en bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*

PARAMETRO	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20
<b>SUAVIDAD</b>																				
<b>EN LA BOCA</b>																				
Muy Áspero	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Áspero	45	0	41	0	0	0	0	0	0	0	0	25	0	11	8	0	12	0	25	0
Neutral	0	0	9	11	22	30	10	15	25	5	20	25	29	39	42	30	38	30	25	30
Suave	0	33	0	39	28	20	40	35	25	45	30	0	21	0	0	20	0	20	0	20
Muy Suave	0	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

*Nota.* La tabla muestra los resultados de la suavidad en boca en 20 muestras (M1–M20) de bebidas nutraceuticas artesanales, recolectadas de casas naturistas del Cercado de Lima el 2024.

**Figura 11.**

*Evaluación sensorial de la suavidad en boca en bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*



**Interpretación:**

Existe una notable variabilidad en la percepción de la suavidad entre las diferentes muestras. Algunas muestras se inclinan hacia la aspereza, mientras que otras hacia la neutralidad o la suavidad. Muchas muestras muestran una tendencia hacia la neutralidad. Esto podría significar que estas bebidas no presentan una textura particularmente áspera ni suave.

Tabla 14.

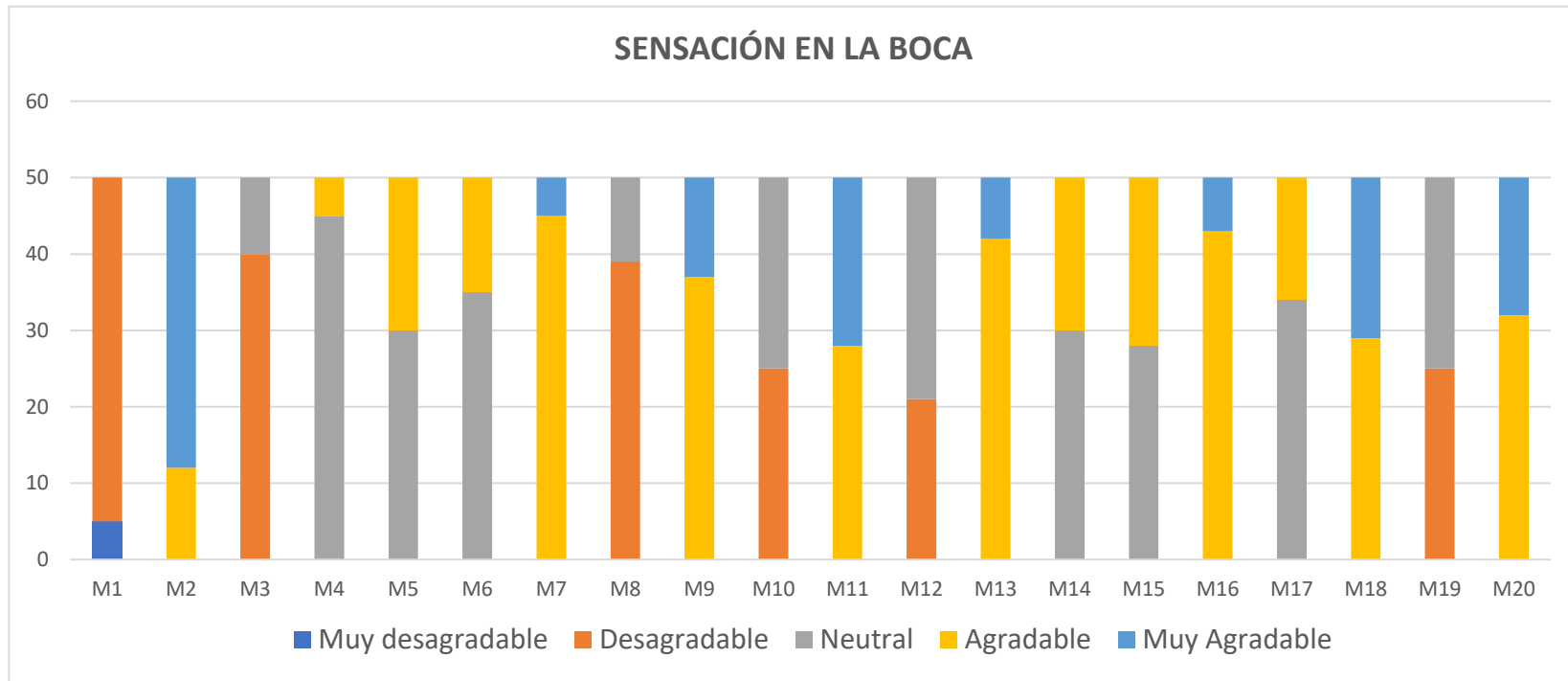
*Evaluación sensorial de la sensación en boca de bebidas nutracéuticas artesanales provenientes de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*

PARAMETRO																				
SENSACIÓN	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20
EN LA BOCA																				
Muy desagradable	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Desagradable	45	0	40	0	0	0	0	39	0	25	0	21	0	0	0	0	0	0	25	0
Neutral	0	0	10	45	30	35	0	11	0	25	0	29	0	30	28		34	0	25	0
Agradable	0	12	0	5	20	15	45	0	37	0	28	0	42	20	22	43	16	29	0	32
Muy Agradable	0	38	0	0	0	0	5	0	13	0	22	0	8	0	0	7	0	21	0	18
Total	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

*Nota.* La tabla muestra la distribución de las respuestas de un panel de evaluación sensorial sobre la sensación en boca de 20 muestras (M1 a M20) de bebidas nutracéuticas de casas naturistas del Cercado de Lima. Los evaluadores clasificaron cada muestra en una escala de cinco puntos: muy desagradable, desagradable, neutral, agradable y muy agradable.

**Figura 12.**

Evaluación sensorial de la sensación en boca de bebidas nutracéuticas artesanales provenientes de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.



#### Interpretación:

La amplia gama de respuestas en todas las categorías (muy desagradable a muy agradable) indica que existe una gran variabilidad en la calidad sensorial de las bebidas nutracéuticas evaluadas. Esto sugiere que las formulaciones y los ingredientes utilizados en estas bebidas varían significativamente entre los productores.

Tabla 15.

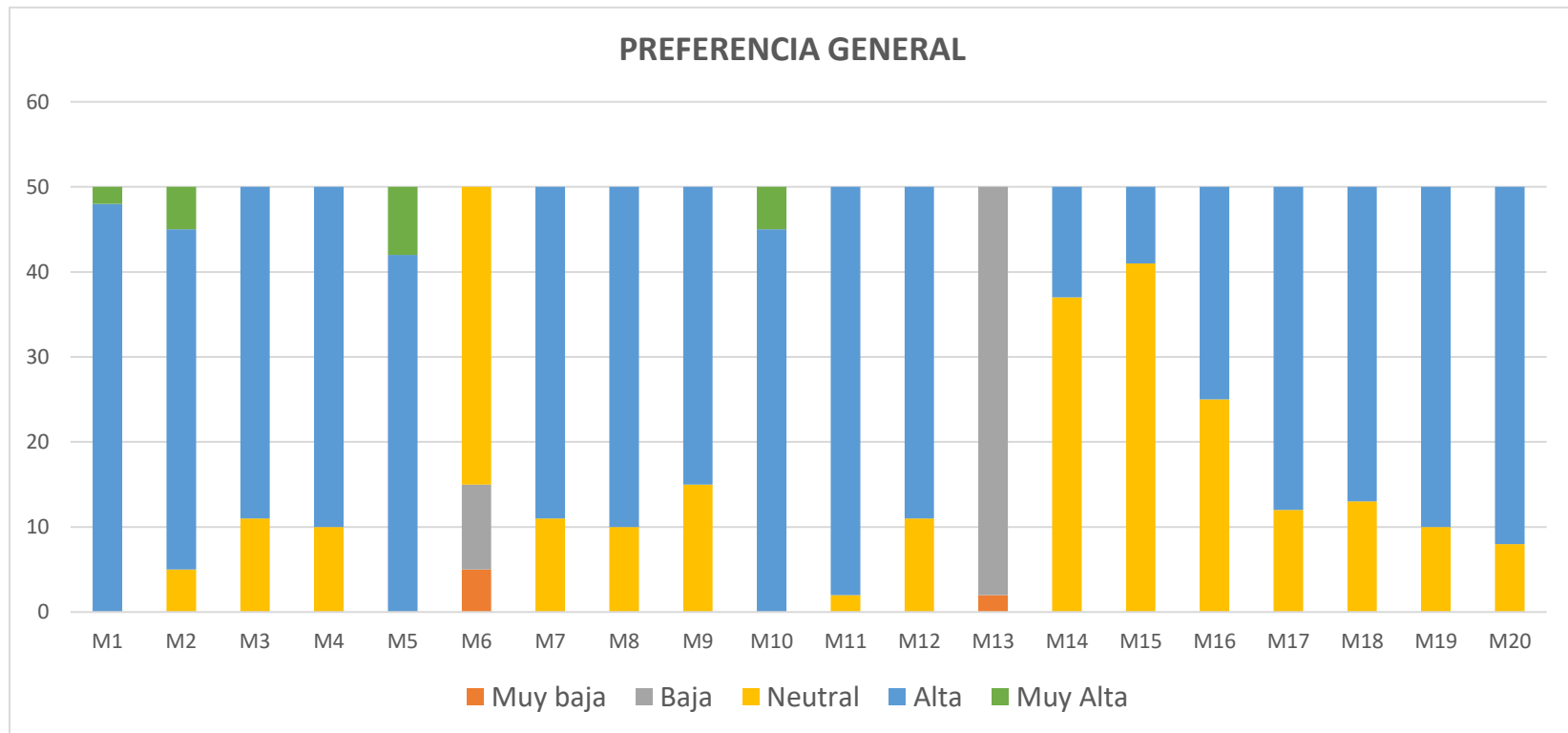
*Evaluación de preferencia general de bebidas nutracéuticas artesanales provenientes de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*

PARAMETRO																				
PREFERENCIA GENERAL	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20
Muy baja	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
Baja	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	48	0	0	0	0	0	0	0
Neutral	0	5	11	10	0	35	11	10	15	0	2	11	0	37	41	25	12	13	10	8
Alta	48	40	39	40	42	0	39	40	35	45	48	39	0	13	9	25	38	37	40	42
Muy Alta	2	5	0	0	8	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

*Nota.* La tabla muestra la distribución de preferencias (muy baja, baja, neutral, alta, muy alta) para 20 muestras de bebidas nutracéuticas (M1 a M20) de casas naturistas del Cercado de Lima, evaluadas por 50 personas cada una.

**Figura 13.**

*Evaluación de preferencia general de bebidas nutracéuticas artesanales provenientes de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*



Interpretación:

Los análisis reportan que la categoría de "alta" preferencia es claramente la más frecuente en la mayoría de las bebidas. Esto indica una aceptación positiva generalizada de estos productos.

Tabla 16.

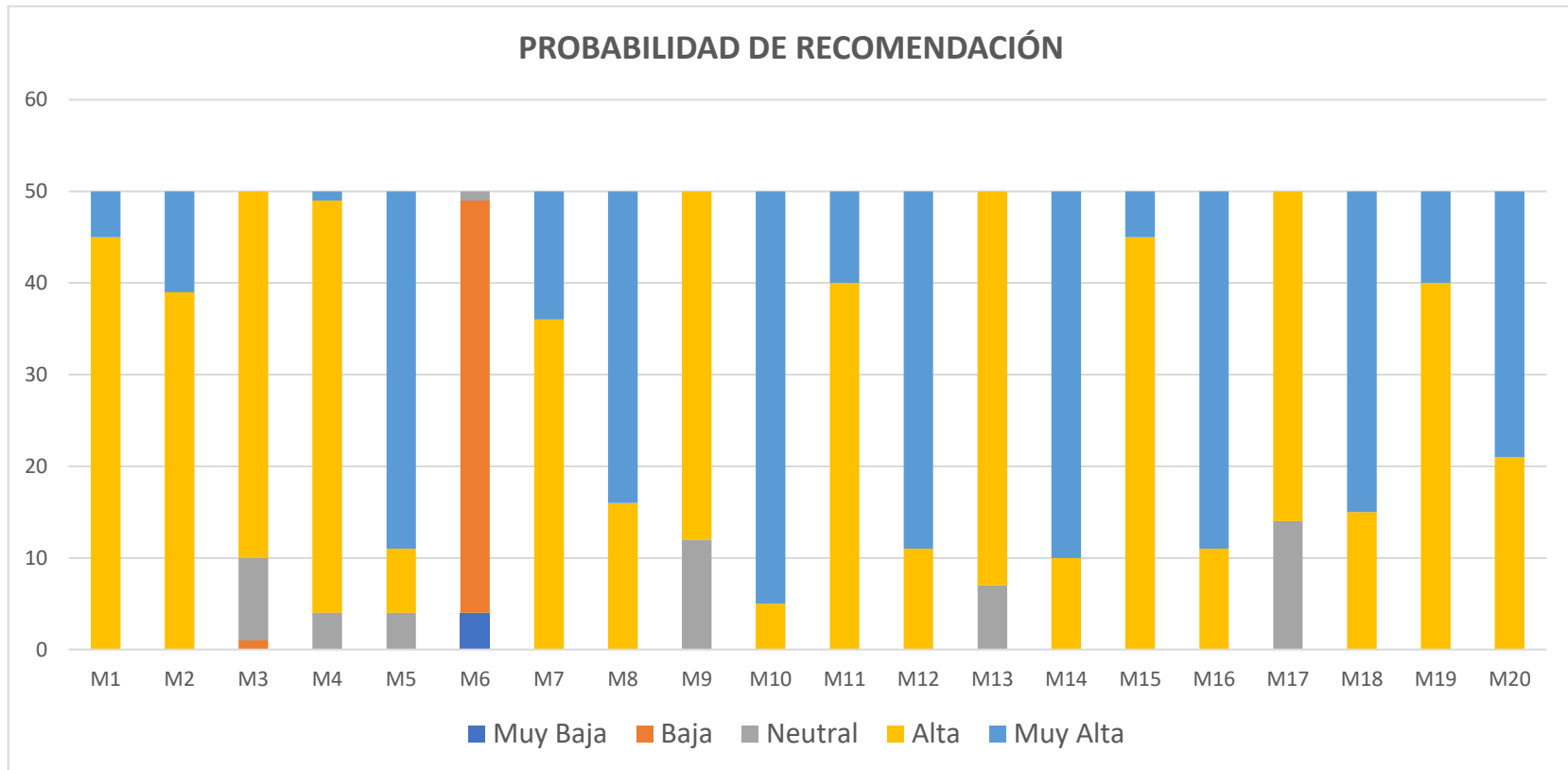
*Evaluación de probabilidad de recomendación de bebidas nutracéuticas artesanales provenientes de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*

PARAMETRO																				
PROBABILIDAD DE RECOMENDACIÓN	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20
Muy Baja	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Baja	0	0	1	0	0	45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Neutral	0	0	9	4	4	1	0	0	12	0	0	0	7	0	0	0	14	0	0	0
Alta	45	39	40	45	7	0	36	16	38	5	40	11	43	10	45	11	36	15	30	21
Muy Alta	5	11	0	1	39	0	14	34	0	45	10	39	0	40	5	39	0	35	10	29
Total	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

*Nota.* La tabla muestra la evaluación de la probabilidad de recomendación de 20 muestras de bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima.

**Figura 14.**

*Evaluación de probabilidad de recomendación de bebidas nutracéuticas artesanales provenientes de casas naturistas del Cercado de Lima, 2024.*



**Interpretación:**

Existe una alta y muy alta posibilidad de recomendación de estas bebidas tal como se muestra en los resultados obtenidos.

**Determinación del Índice de irritabilidad, según ensayo *in vitro* HET-CAM de bebidas nutracéuticas artesanales de casa naturistas del Cercado de Lima 2024.**

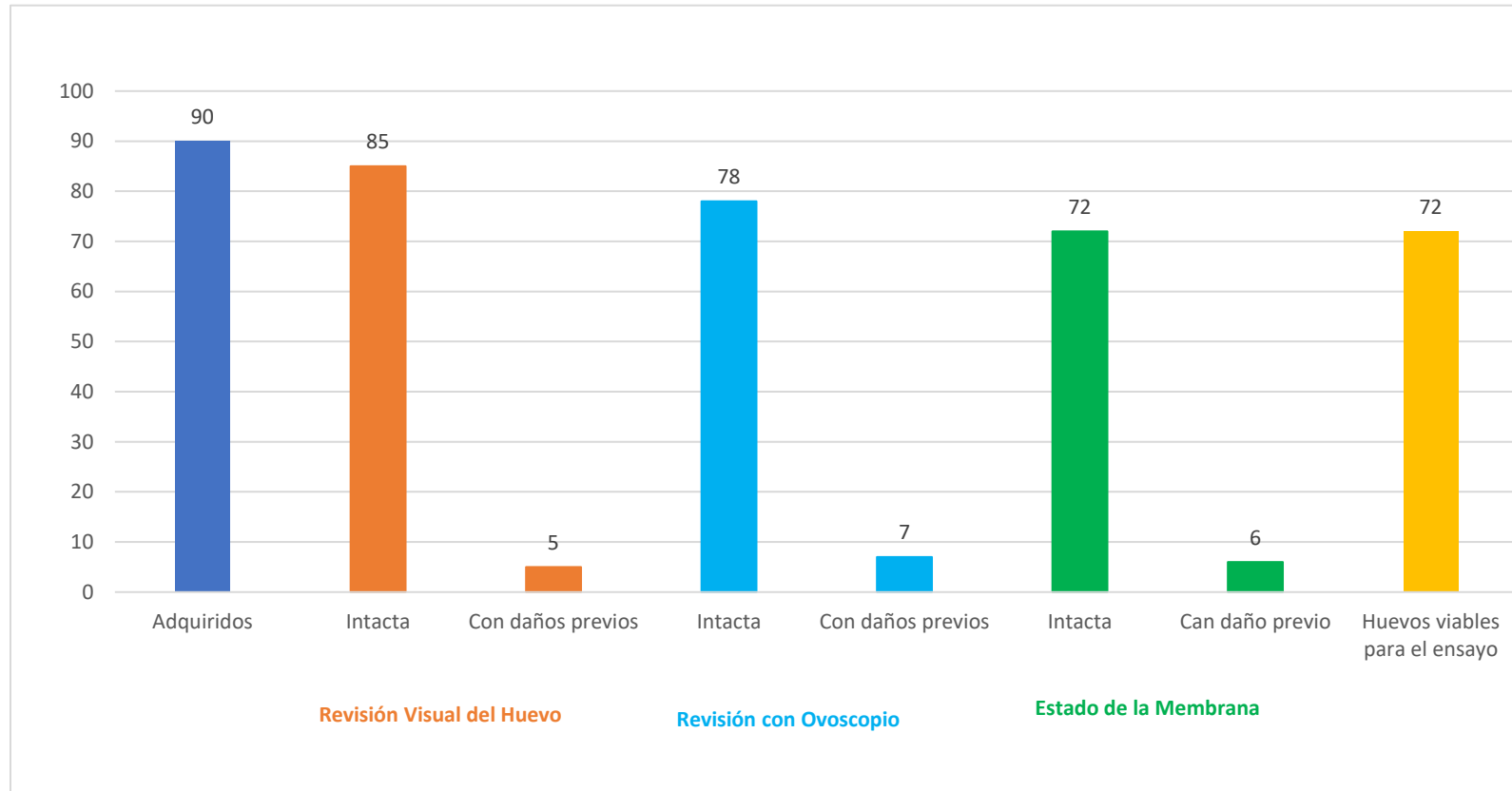
Tabla 17.

*Proceso de selección y estado de la membrana corioalantoidea antes de la aplicación.*

<b>Estado</b>	<b>Detalle</b>	<b>Resultado</b>	<b>Porcentaje</b>
Cantidad de Huevos fértiles-incubados	Adquiridos	90	<b>100%</b>
Revisión visual del huevo	Intacta	85	94%
	Con daños previos	5	6%
Revisión con Ovoscopio	Intacta	78	92%
	Con daños previos	7	8%
Estado de la Membrana	Intacta	72	92%
	Can daño previo	6	8%
Total, de huevos viables para el ensayo		72	80%

*Nota.* La tabla muestra el proceso de selección de huevos fértiles – incubados, con la membrana corioalantoidea viable para el ensayo de HET-CAM.

**Figura 15.**  
*Estado de la Membrana Corioalantoidea antes de la aplicación.*



**Interpretación:**

Para el desarrollo del ensayo se contó inicialmente con 90 huevos de gallina fértiles con 10 días de incubación, de los cuales luego de todas las evaluaciones quedaron 72 (80%) huevos óptimos para el ensayo.

Tabla 18.  
*Índice de irritabilidad según ensayo in vitro HET-CAM.*

OBSERVACIÓN	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20
HEMORRAGIA Tiempo en Segundos	219	285	271	259	277	280	225	230	217	250	202	245	280	212	290	215	230	222	260	230
LISIS Tiempo en Segundos	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301
COAGULACIÓN Tiempo en Segundos	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301	301
INDICE DE IRRITABILIDAD (I.IR)	1.37	0.27	0.5	0.7	0.4	0.35	1.27	1.18	1.4	0.85	1.65	0.93	0.35	1.48	0.18	1.43	1.18	1.32	0.68	1.18

*Nota.* La tabla muestra los tiempos de aparición (en segundos) de diferentes signos, en la membrana corioalantoidea posterior al contacto con 20 muestras (M1 – M20) de bebidas nutraceúticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima.

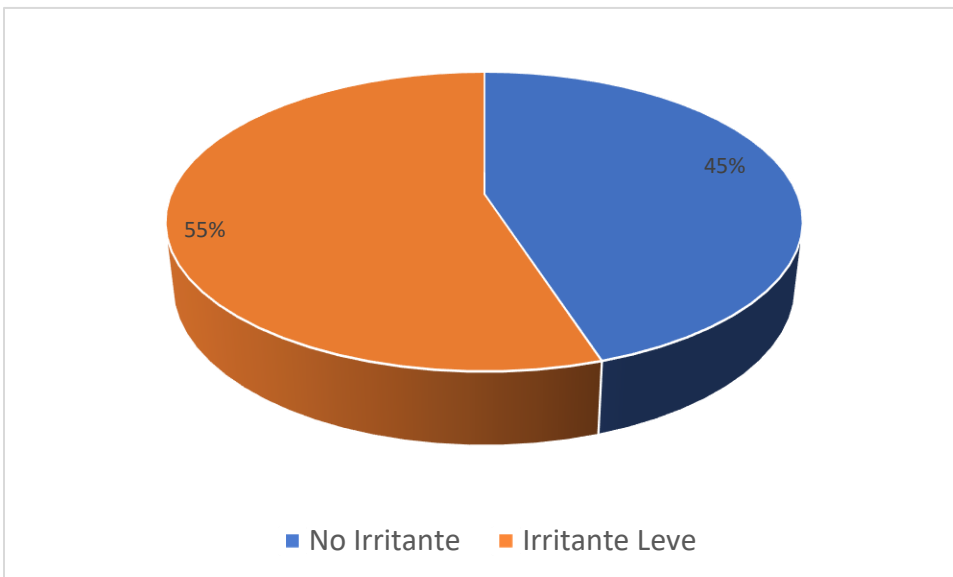
Tabla 19.  
*Categoría irritante según ensayo in vitro HET-CAM.*

MUESTRA	Resultado (Índice de Irritabilidad)	Categoría	Rango HET-CAM	Categoría de Irritación
M1	1.37	Irritante Leve	0.0 - 0.9	No Irritante
M2	0.27	No Irritante		
M3	0.5	No Irritante		
M4	0.7	No Irritante		
M5	0.4	No Irritante		
M6	0.35	No Irritante		
M7	1.27	Irritante Leve	1.0 - 4.9	Irritante Leve
M8	1.18	Irritante Leve		
M9	1.4	Irritante Leve		
M10	0.85	No Irritante	5.0 - 8.9	Irritante moderado
M11	1.65	Irritante Leve		
M12	0.93	Irritante Leve	9.0 - 21.0	Irritante Severo
M13	0.35	No Irritante		
M14	1.48	Irritante Leve		
M15	0.18	No Irritante		
M16	1.43	Irritante Leve		
M17	1.18	Irritante Leve		
M18	1.32	Irritante Leve		
M19	0.68	No Irritante		
M20	1.18	Irritante Leve		

*Nota.* La tabla muestra una evaluación cuantitativa y cualitativa de la irritabilidad de las 20 muestras (M1 – M20) de bebidas nutraceúticas artesanales, utilizando el índice de irritabilidad y la clasificación de categorías basada en el rango HET-CAM.

**Figura 16.**

*Porcentaje de muestras clasificadas como No Irritante e Irritante Leve*



Interpretación:

El gráfico muestra que la mayoría de las muestras (55%) se clasificaron como "Irritante Leve".

El 45% restante de las muestras se clasificaron como "No Irritante". Aunque hay una diferencia, las proporciones de muestras en ambas categorías son relativamente cercanas.

Tabla 20.  
Efectos específicos recurrentes según ensayo *in vitro* HET-CAM.

Efectos específicos	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	M19	M20
<b>Hemorragia</b>	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<b>Lisis</b>	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
<b>Coagulación</b>	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO

*Nota.* La tabla muestra el efecto específico (Hemorragia, Lisis, Coagulación) recurrente durante el ensayo *in vitro* HET-CAM de las 20 muestras (M1 – M20) de bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima.

#### 4.1.2 Discusión de resultados

El presente estudio se propuso determinar la toxicidad potencial *in vitro* de bebidas nutracéuticas artesanales expandidas en casas naturistas del Cercado de Lima durante 2024, utilizando el ensayo HET-CAM. Este objetivo general se abordó mediante la evaluación de 20 muestras, revelando que 9 (45%) de ellas se clasificaron como no irritantes, mientras que 11 (55%) presentaron un potencial de irritación leve. Estos hallazgos son significativos, ya que indican que más de la mitad de los productos analizados, disponibles para el consumo directo, poseen la capacidad de inducir una respuesta irritativa en membranas biológicas.

En relación con los objetivos específicos, se logró establecer el índice de irritabilidad (IIR) para cada una de las 20 bebidas nutracéuticas, lo que permitió su posterior categorización. La clasificación obtenida – "no irritante" e "irritante leve" – demuestra la heterogeneidad en la seguridad de estos productos artesanales. Este espectro de resultados es consistente con la literatura científica. Por un lado, los 9 productos no irritantes se alinean con estudios como el de Pineda a

nivel nacional, quien encontró que un gel de extracto acuoso de pitahaya era no irritante, y con diversas investigaciones internacionales como las de Munieweg et al., Ruscinc , Phumat et al. y Semenescu et al., donde diversos extractos y compuestos naturales también resultaron ser no irritantes mediante el HET-CAM. Esto subraya que los productos de origen natural pueden ser formulados de manera segura.

Por otro lado, el hallazgo de 11 bebidas con potencial de irritación leve resuena con las preocupaciones planteadas por Celestino y Llacsá, quienes encontraron alta irritación en cremas sin registro sanitario, sugiriendo que la falta de controles estandarizados en productos artesanales puede llevar a riesgos para el consumidor. Si bien la irritación observada en nuestro estudio fue "leve", es un indicador de bioactividad que no debe subestimarse. La variabilidad en los resultados también puede explicarse por las diferencias en la concentración de los componentes, un factor destacado por Weimer et al. y Corrêa et al., quienes observaron que la irritación de aceites esenciales dependía de su dilución. Las bebidas nutracéuticas artesanales, por su naturaleza, pueden tener concentraciones variables de extractos vegetales, lo que podría explicar por qué algunas muestras indujeron una respuesta irritativa leve mientras otras no.

En cuanto a la identificación de los efectos específicos observados en el ensayo HET-CAM , las 11 muestras clasificadas como "irritantes leves" indujeron principalmente fenómenos como vasodilatación ligera de los vasos sanguíneos de la membrana corioalantoidea dentro del periodo de observación de 5 minutos. No se observaron reacciones severas como hemorragias extensas, lisis o coagulación intravascular significativa, lo cual es coherente con la categoría de "irritación leve". Estos hallazgos son similares a los de Batista, quien reportó lisis ligera como el principal efecto de un adyuvante clasificado como no irritante o mínimamente irritante. La aparición de

estos efectos, aunque leves, indica una interacción del producto con la membrana biológica que altera su homeostasis y es un indicador temprano de potencial citotóxico.

La implicación de estos hallazgos, particularmente la irritación leve detectada, merece consideración en el contexto del consumo oral de estas bebidas. La mucosa gástrica, aunque cuenta con mecanismos de protección, puede ser afectada por diversos compuestos bioactivos presentes en nutraceuticos. Sustancias como la capsaicina, ciertos polifenoles en altas concentraciones, o incluso compuestos en el jengibre y la cúrcuma, pueden tener efectos irritantes o modular la fisiología gástrica de manera que, en individuos sensibles o con consumo crónico, una "irritación leve" detectada en una membrana sensible como la CAM podría traducirse en molestias gástricas, dispepsia o exacerbación de condiciones preexistentes. La mucosa oral, primer tejido en contacto, también podría experimentar esta irritación.

Al determinar la respuesta sensorial de las bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima 2024 nuestros resultados evidenciaron que la respuesta de los evaluadores en función al análisis organoléptico, preferencia y probabilidad de recomendación fue alta; podemos citar a **Acuña et. al** 2021 en su investigación Percepción sensorial de bebidas gaseosas utilizando pruebas sensoriales, sus resultados mostraron que los atributos de sabor, dulzor y la intensidad influyeron en su aceptación. El estudio concluye que la percepción sensorial de las bebidas gaseosas está significativamente influenciada por atributos como el sabor, el dulzor y la intensidad, sugiere que estos atributos son cruciales para la aceptación de los consumidores.

Finalmente, en lo referente al grado de cumplimiento de la normativa regulatoria en las bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima 2024 nuestros resultados evidenciaron un cumplimiento del 61% en promedio, el cual es considerado alto y con un nivel satisfactorio, esto puede compararse con **Bautista et. al** 2024, Mediante una lista de verificación de

los criterios de rotulado establecido en la NTE INEN 1334, Requisitos para el rotulado de alimentos para consumo humano, menciona que las bebidas analizadas cumplen con la normativa, garantizando así la calidad y seguridad a los consumidores.

Es importante reconocer las limitaciones del estudio: el HET-CAM se centra en la evaluación de la irritación aguda local. Sus hallazgos, por tanto, se limitan a este ámbito y no deben interpretarse como indicadores directos de toxicidad crónica o sistémica por vía oral; esta última requiere metodologías de evaluación diferentes. No obstante, como prueba de detección de potencial irritante en mucosas, sus resultados son valiosos.

## CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

Primero. Al establecer el índice de irritabilidad de las bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima 2024, evaluado mediante el ensayo *in vitro* de HET-CAM, podemos afirmar que este es un método apropiado para este ensayo y que puede aplicarse a diferentes productos por la exactitud y facilidad del método, asimismo, sus resultados pueden ser aplicables a estructuras similares a la mucosa ocular como son algunas zonas de la mucosa del tracto digestivo.

Segundo. Al determinar la categoría de irritación (según las clasificaciones establecidas) que provocan las bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima en 2024, a través de ensayo *in vitro* HET-CAM podemos afirmar que estas muestras son no Irritante e Irritante Leve.

Tercero. Al identificar y describir los efectos específicos más recurrentes, como lisis, hemorragia o coagulación, que se observan en el ensayo *in vitro* HET-CAM al evaluar bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima 2024, podemos

afirmar que solo presenta hemorragia leve al final del conteo del tiempo establecido en el ensayo.

Cuarto. Al determinar la respuesta sensorial de las bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima 2024, estos se dirigen más a la aceptación del producto, aunque hay quienes tienen algunos parámetros que pueden complicar los resultados, la mayoría acepta y aprueba el producto.

Quinto. Al determinar el cumplimiento de la normativa regulatoria en las bebidas nutracéuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima 2024, el cumplimiento es alto para la mayoría de los productos en sus diferentes preparaciones.

Sexto. Finalmente, al determinar la toxicidad *in vitro* de las bebidas nutracéuticas artesanales expandidas en casas naturistas del Cercado de Lima 2024, con todos los ensayos realizados podemos afirmar que no existe toxicidad relevante a la dosis recomendada.

## 5.2 Recomendaciones

1. Se recomienda complementar el método HET-CAM con técnicas *in vitro* adicionales (como ensayos de citotoxicidad en líneas celulares) con el fin de validar los resultados obtenidos y ofrecer una visión más integral sobre la seguridad de las bebidas nutracéuticas artesanales. Esto permitirá mejorar la robustez y confiabilidad del estudio.
2. Se sugiere ampliar la muestra de productos y diversificar las bebidas o casas naturistas incluidas en la evaluación, a fin de obtener una representación más completa y precisa del comportamiento irritativo de las bebidas nutracéuticas artesanales.
3. Dado que se observó hemorragia leve en algunos casos, se recomienda llevar a cabo análisis fitoquímicos específicos de los componentes de las bebidas, con el objetivo de

identificar compuestos potencialmente irritantes o bioactivos que puedan influir en los resultados del ensayo.

4. Se sugiere estandarizar y profundizar en las pruebas sensoriales aplicadas, incorporando escalas más detalladas, paneles entrenados y análisis estadísticos multivariados. Esto permitirá entender mejor las preferencias del consumidor y orientar mejoras en formulaciones.
5. Para respaldar de manera objetiva el cumplimiento de las normativas sanitarias, se recomienda complementar la evaluación documental con análisis de laboratorio (físicoquímicos o microbiológicos) que permitan verificar la calidad e inocuidad de las bebidas en sus diferentes presentaciones.
6. En vista de que los resultados indican ausencia de toxicidad a dosis recomendadas, se aconseja comunicar esta información de manera clara y basada en evidencia, reforzando la importancia del consumo moderado y dentro de las dosis sugeridas por los fabricantes. Además, se recomienda promover programas de formación continua en buenas prácticas de manufactura, etiquetado, bioseguridad y normativas vigentes, con el fin de elevar el estándar de calidad del sector artesanal y garantizar la protección del consumidor.

**REFERENCIAS**

1. Cao Y, Xia Z, Liu S, Zhang X, Wang J, Du Z, et al. *In vitro* toxicological evaluation of botanical ingredients commonly used in nutraceutical beverages. **Food Chem Toxicol.** 2023;157:112405.
2. Rodríguez-Cruz MS, López-García E, Silva-Luna J, Pérez-Hernández A, Gómez-López M, Fernández - Rodríguez R, et al. Cellular responses to herbal extracts in nutraceutical formulations: implications for safety assessment. **J Ethnopharmacol.** 2022;289:114902.
3. Sharma A, Singh P, Verma N, Kumar R, Gupta R, Thakur L, et al. Toxicological evaluation of natural antioxidants in beverages: current trends and challenges. **Crit Rev Food Sci Nutr.** 2021;61(5):836-849.
4. Smith J, Cooper S, Garcia N, Martinez M, Lopez G. Safety assessment of traditional herbal formulations for human consumption: *in vitro* studies. **Toxicol Lett.** 2020;315:82-91.
5. Wang L, Zhang Q, Li F, Huang X, Jiang Y, Feng L, et al. *In vitro* cytotoxicity assessment of dietary supplements and herbal medicines: challenges and considerations. **Toxicol In Vitro.** 2019;58:145-154.
6. Dreher ML. Handbook of Functional Beverages and Human Health. Boca Raton: CRC Press; 2018.
7. Matsuyama T, Kaneko T, Nishimura K, Iwasa M, Ichida T. Gastrointestinal adverse effects of herbal medicines used for treatment of digestive disorders in Japan. **J Gastroenterol Hepatol.** 2011;26(Suppl 3):127–32.
8. Srinivasan K. Biological activities of spices used in food. In: Watson RR, Preedy VR, editors. Bioactive Food as Dietary Interventions for Liver and Gastrointestinal Disease. London: Academic Press; 2013. p. 167–81.

9. Nair B. Final report on the safety assessment of Capsicum annum extract, Capsicum frutescens fruit extract, capsaicin, and capsaicinoids. *Int J Toxicol.* 2001;20(Suppl 3):3–29.
10. Huang Q, Lu G, Shen HM, Chung MC, Ong CN. Anti-cancer properties of anthocyanins: mechanisms and therapeutic potential. *Biotechnol Adv.* 2007;25(2):126–37.
11. Kreydiyyeh SI, Usta J. Impact of ginger on gastric emptying and motility in humans and animals: a review. *J Med Food.* 2002;5(4):159–69.
12. Sánchez Fayos Calabuig P, Martín Relloso MJ, Porres Cubero JC. La mucosa gástrica como estructura diana de agresiones proinflamatorias persistentes: modelos patogénicos de gastritis crónica. *Gastroenterol Hepatol.* 2009;32(4):294–306. doi:10.1016/j.gastrohep.2009.01.007
13. Recavarren Asencios R, Recavarren Arce S. Gastritis crónica atrófica: mecanismos patogénicos por hipersensibilidad celular. *Rev Gastroenterol Peru.* 2002;22(3):223–30. Available from: <https://revistagastroperu.com/index.php/rgp/article/view/740>
14. Gutiérrez O, López Cepero JM, Rodríguez Pino J. Detección de neovascularización en mucosa gástrica inflamada por *Helicobacter pylori*. *Rev Esp Enferm Dig.* 2006;98(7):516–23. Available from: [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1130-01082006000700006](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-01082006000700006)
15. Takemura S, Kobayashi M, Yoshikawa T, et al. Dilatación de vasos subepiteliales y alteraciones de la mucosa gástrica para detectar gastritis por *Helicobacter pylori* con endoscopia de alta resolución y magnificación. *Gastroenterol Latinoam.* [Internet]. Available from: <https://gastrolat.org/tl9-dilatacion-de-vasos-subepiteliales-y-alteraciones->

de-la-mucosa-gastrica-para-detectar-gastritis-por-helicobacter-pylori-con-endoscopia-de-alta-resolucion-y-magnif/

16. Celestino Ramírez FV, Llacsa Quispe LM. Evaluación de la irritabilidad ocular *in vitro* mediante el método HET-CAM en cremas para contorno de ojos con y sin registro sanitario que se comercializan en el distrito de La Victoria, La Parada - Lima [Undergraduate thesis]. Lima: Universidad Wiener; 2018.
17. Quispe Gutiérrez A. Análisis de la toxicidad ocular aguda de los colirios de fluconazol por el método HET-CAM en Hospital de Emergencias Villa El Salvador [Undergraduate thesis]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2021.
18. Neuman Pineda P, Cervantes L, Vílchez H, Villanueva L, Pulido V. Evaluación de la irritación ocular *in vitro* de extractos de plantas nativas del Perú usando el método HET-CAM. **Arnaldoa**. 2019;26(1):369-380.
19. Munieweg FR, Poletto ALR, Boldori JR, Stopiglia CDO, de Carvalho FB, Haas SE, et al. Antiproliferative cancer cell and fungicidal effects of yellow and red Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extract. *Foods*. 2023;12(23):4307. doi: 10.3390/foods12234307.
20. Ruscinc N, Massarico Serafim RA, Almeida C, Rosado C, Baby AR. Challenging the safety and efficacy of topically applied chlorogenic acid, apigenin, kaempferol, and naringenin by HET-CAM, HPLC-TBARS-EVSC, and laser Doppler flowmetry. *Front Chem*. 2024;12:1400881. doi: 10.3389/fchem.2024.1400881
21. Weimer P, Moura JGL, Mossmann V, Immig ML, de Castilhos J, Rossi RC. Citrus aurantiifolia (Christm) Swingle: Biological potential and safety profile of essential oils from leaves and fruit peels. *Food Biosci*. 2021;40:100905. doi: 10.1016/j.fbio.2021.100905.

22. Ribeiro BG, de Souza Leão VLX, Guerra JMC, Sarubbo LA. Cookies and muffins containing biosurfactant: textural, physicochemical and sensory analyses. *J Food Sci Technol*. 2023 Aug;60(8):2180-2192. doi: 10.1007/s13197-023-05745-9.
23. Phumat P, Chaichit S, Potprommanee S, Preedalikit W, Sainakham M, Poomanee W, et al. Influence of *Benincasa hispida* peel extracts on antioxidant and anti-aging activities, including molecular docking simulation. *Foods*. 2023;12(19):3555. doi: 10.3390/foods12193555.
24. Corrêa ANR, Weimer P, Rossi RC, Hoffmann JF, Koester LS, Suyenaga ES, et al. Lime and orange essential oils and D-limonene as a potential COVID-19 inhibitor: Computational, in chemico, and cytotoxicity analysis. *Food Biosci* [Internet]. 2023 [cited 2025 May 2];51:102348. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102348>
25. Semenescu I, Avram S, Similie D, Minda D, Diaconeasa Z, Muntean D, et al. Phytochemical, Antioxidant, Antimicrobial and Safety Profile of *Glycyrrhiza glabra* L. Extract Obtained from Romania. *Plants*. 2024;13(23):3265. doi: 10.3390/plants13233265
26. Batista A, Murillo G, Pérez U, Tur E, Portuondo D, Pérez O. Evaluación de la irritabilidad en mucosa del adyuvante AFCO1 por el método de HET-CAM. *Vaccimonitor*. 2011;20(1): Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-028X2011000100004](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-028X2011000100004) [consultado 15 Abr 2025].
27. Palmeira-de-Oliveira R, Monteiro Machado R, Martinez-de-Oliveira J, Palmeira-de-Oliveira A. Testing vaginal irritation with the Hen's Egg Test-Chorioallantoic Membrane assay. *ALTEX*. 2018;35(4):495–503. doi:10.14573/altex.1710091.
28. Derouiche MTT. Prueba HET-CAM. Aplicación a champús en países en desarrollo. *Toxicol In Vitro*. 2017;45(3):393-396. doi:10.1016/j.tiv.2017.08.005.

29. Budai P, Kormos É, Buda I, Somody G, Lehel J. Evaluación comparativa de los métodos HET-CAM e ICE para la evaluación objetiva de la irritación ocular causada por productos pesticidas seleccionados. **Toxicol In Vitro**. 2021;74:105154. doi:10.1016/j.tiv.2021.105154.
30. Stable-García Y, Zamora-Rodríguez Z, Fernández-García A. Método de la membrana corioalantoidea del embrión de pollo: una alternativa en la experimentación toxicológica y farmacológica. **Rev CENIC Cienc Biol**. 2021;52(2):118-128.
31. Madureira de Araujo Lowndes Viera L, Santos Silva R, Caldeira da Silva C, Presgrave OAF, Simões Villas Boas MH. Comparison of the different protocols of the Hen's Egg Test-Chorioallantoic Membrane (HET-CAM) by evaluating the eye irritation potential of surfactants. **Toxicol In Vitro**. 2022;78-85.
32. Luepke NP. The Hen's Egg Test-Chorioallantoic Membrane (HET-CAM) assay: A tool for the evaluation of ocular irritation potential of chemicals. **Toxicol In Vitro**. 2019;56:1-7.
33. Gomez J, Enoch SJ. Principles and applications of the HET-CAM assay: A review of current methodologies and future directions. **J Toxicol Environ Health B Crit Rev**. 2021;24(4):220-238.
34. Lee H, Kim JS. Evaluation of HET-CAM protocols for assessing ocular irritation: A comparative study. **Regul Toxicol Pharmacol**. 2020; 112:104611.
35. Hsu CY, Tsai YH. Optimization and validation of the HET-CAM assay for ocular irritation testing: Protocol modifications and improvements. **Toxicol Methods**. 2022;12(2):131-145.

36. Pereira TS, Costa AP. The role of HET-CAM in regulatory toxicology: Assessing the impact of new chemical substances. **Environ Toxicol Chem.** 2021;40(9):2742-2754.
37. Muller M, Schulte A. Applications of the HET-CAM assay in cosmetic safety evaluation: A case study on surfactants. **Cosmetic Sci Technol.** 2018;13(1):87-101.
38. Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology, Diagnosis, Management. 11th ed. Philadelphia: Elsevier; 2021.
39. Nair B. Final report on the safety assessment of Capsicum annum extract, Capsicum frutescens fruit extract, capsaicin, and capsaicinoids. *Int J Toxicol.* 2001;20(Suppl 3):3–29.
40. Srinivasan K. Biological activities of spices used in food. In: Watson RR, Preedy VR, editors. *Bioactive Food as Dietary Interventions for Liver and Gastrointestinal Disease.* London: Academic Press; 2013. p. 167–81.
41. Dreher ML. *Handbook of Functional Beverages and Human Health.* Boca Raton: CRC Press; 2018.
42. Huang Q, Lu G, Shen HM, Chung MC, Ong CN. Anti-cancer properties of anthocyanins: mechanisms and therapeutic potential. *Biotechnol Adv.* 2007;25(2):126–37.
43. Matsuyama T, Kaneko T, Nishimura K, Iwasa M, Ichida T. Gastrointestinal adverse effects of herbal medicines used for treatment of digestive disorders in Japan. *J Gastroenterol Hepatol.* 2011;26(Suppl 3):127–32.
44. Kreydiyyeh SI, Usta J. Impact of ginger on gastric emptying and motility in humans and animals: a review. *J Med Food.* 2002;5(4):159–69.
45. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary fiber, gut flora, and fecal bulk. **Am J Clin Nutr.** 2005;61(3):675-679.

46. Slavin JL. Dietary fiber and body weight. **Nutr.** 2023;29(4):1225-1230.
47. Perú. Ley General de Salud, Ley N.º 26842. **Diario Oficial El Peruano.** 1997.
48. Perú. Reglamento de Control Sanitario de los Alimentos, DS N.º 007-98-SA. **Diario Oficial El Peruano.** 1998.
49. Perú. Reglamento de Etiquetado de Alimentos y Bebidas, DS N.º 003-2010-SA. **Diario Oficial El Peruano.** 2010.
50. Perú. Ley N.º 29316, Ley de Etiquetado de Alimentos. **Diario Oficial El Peruano.** 2009.
51. Perú. Reglamento para el Registro Sanitario de Productos Farmacéuticos, Biológicos y de Terapia Celular, DS N.º 013-2015-SA. **Diario Oficial El Peruano.** 2015.
52. Perú. Ley N.º 30309, Ley de Promoción de la Inversión en Investigación Científica y Tecnológica. **Diario Oficial El Peruano.** 2015.
53. Perú. Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura para Productos Farmacéuticos, DS N.º 014-2011-SA. **Diario Oficial El Peruano.** 2011.
54. Perú. Reglamento de Claims Nutricionales y de Salud, DS N.º 007-2014-SA. **Diario Oficial El Peruano.** 2014.
55. Dirección General de Salud Ambiental e Inocuidad Alimentaria. **DIGESA.** 2020.
56. Thompson G. Alternative Medicine: The Definitive Guide. 2nd ed. **Future Medicine Publishing;** 2008.
57. Pizzorno JE, Murray MT. Textbook of Natural Medicine. 4th ed. **Elsevier Health Sciences;** 2013.
58. Hernández Sampieri R, Fernández Collado C, Baptista Lucio M. Metodología de la investigación. 6ta ed. **McGraw-Hill;** 2014.

59. García J. Métodos de investigación en ciencias sociales. 2da ed. **Ediciones Paraninfo**; 2017.
60. González MA. Fundamentos de investigación en ciencias sociales. 4ta ed. **McGraw-Hill**; 2018.
61. Draize JH. Dermal Toxicity: A Technique for Evaluating the Irritant Effects of Chemicals on the Skin. **J Pharmacol Exp Ther**. 1959.

**ANEXOS**

## Anexo 1: Matriz de consistencia

### TOXICIDAD POTENCIAL *In Vitro* POR EL MÉTODO HET-CAM DE BEBIDAS NUTRACÉUTICAS ARTESANALES DE CASAS NATURISTAS DE CERCADO DE LIMA – 2024

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	METODOLOGÍA
¿Qué toxicidad <i>in vitro</i> presentan las bebidas nutraceuticas artesanales expandidas en casas naturistas del Cercado de Lima 2024?	Determinar que toxicidad <i>in vitro</i> presentan de las bebidas nutraceuticas artesanales expandidas en casas naturistas del Cercado de Lima 2024.	No aplica	<b>Método</b> Analítico-descriptivo  <b>Enfoque:</b> Cuantitativo  <b>Tipo:</b> Básico  <b>Diseño:</b> Descriptivo  <b>Población</b> Bebidas nutraceuticas artesanales.  <b>Muestra</b> 20 muestras tomadas de las casas artesanales naturistas ubicado en el Cercado de Lima.  <b>Muestreo</b> No Probabilístico – Por conveniencia.
PROBLEMAS ESPECIFICOS	OBJETIVOS ESPECIFICOS	HIPOTESIS ESPECIFICOS	
¿Cuál es el índice de irritabilidad según ensayo <i>in vitro</i> HET-CAM de bebidas nutraceuticas artesanales de casa naturistas del Cercado de Lima 2024?	Establecer el índice de irritabilidad de las bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima 2024, evaluado mediante el ensayo <i>in vitro</i> de HET-CAM.	No aplica	
¿Qué categoría Irritante provoca por el ensayo <i>in vitro</i> HET-CAM, las bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima 2024?	Determinar la categoría de irritación (según las clasificaciones establecidas) que provocan las bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima en 2024, a través de ensayo <i>in vitro</i> HET-CAM	No aplica	
¿Cuáles son los efectos específicos más recurrentes por el ensayo <i>in vitro</i> de HET-CAM, como lisis hemorragia o coagulación, de bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima 2024?	Identificar y describir los efectos específicos más recurrentes, como lisis, hemorragia o coagulación, que se observan en el ensayo <i>in vitro</i> HET-CAM al evaluar bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima 2024.	No aplica	

<p>¿Cuál es el análisis sensorial de las bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima-2024?</p>	<p>Determinar la respuesta sensorial de las bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima 2024.</p>	<p>No Aplica</p>	
<p>¿Qué grado de cumplimiento de la normativa regulatoria tienen las bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima 2024?</p>	<p>Determinar el cumplimiento de la normativa regulatoria en las bebidas nutraceuticas artesanales de casas naturistas del Cercado de Lima 2024.</p>	<p>No aplica</p>	

## Anexo 2: Instrumentos

### INSTRUMENTO 1

#### FORMULARIO DE EVALUACIÓN DE TOXICIDAD *in vitro* DE BEBIDAS ARTESANALES DE CASAS NATURISTAS DE CERCADO DE LIMA - 2024

##### INFORMACIÓN GENERAL:

1. Número de muestra: \_\_\_\_\_
2. Nombre de la bebida nutracéutica: \_\_\_\_\_
3. Marca: \_\_\_\_\_
4. Concentración de la bebida (si aplica): \_\_\_\_\_
5. Fecha de preparación: \_\_\_\_\_
6. Preparado por: \_\_\_\_\_
7. Institución/ Laboratorio: \_\_\_\_\_

##### PREPARACIÓN Y APLICACIÓN:

1. Tipo de extracto preparado:
  - Acuosa
  - Hidroalcohólica
  - Glicólica
  - Otro: \_\_\_\_\_
2. Concentración aplicada: \_\_\_\_\_
3. Volumen aplicado: \_\_\_\_\_
4. Tiempo de contacto: \_\_\_\_\_

##### OBSERVACIONES INICIALES:

1. Estado de la membrana corioalantoidea antes de la aplicación:
  - Intacta
  - Con daños previos (especificar): \_\_\_\_\_
2. Descripción del ambiente de prueba:
  - Temperatura: \_\_\_\_\_
  - Humedad: \_\_\_\_\_

##### RESULTADOS:

1. Observación inmediata:
  - Hemorragia:
    - No observada
    - Leve (describir): \_\_\_\_\_
    - Moderada (describir): \_\_\_\_\_
    - Severa (describir): \_\_\_\_\_

- Lisis vascular:
    - No observada
    - Leve (describir): \_\_\_\_\_
    - Moderada (describir): \_\_\_\_\_
    - Severa (describir): \_\_\_\_\_
  - Coagulación:
    - No observada
    - Leve (describir): \_\_\_\_\_
    - Moderada (describir): \_\_\_\_\_
    - Severa (describir): \_\_\_\_\_
2. Tiempo de aparición de efectos:
- Hemorragia: \_\_\_\_\_ segundos
  - Lisis vascular: \_\_\_\_\_ segundos
  - Coagulación: \_\_\_\_\_ segundos

**COMENTARIOS ADICIONALES:**

1. Observaciones generales sobre el experimento:

○ \_\_\_\_\_

2. Recomendaciones para futuras evaluaciones:

○ \_\_\_\_\_

**Firma del evaluador:**

---

## INSTRUMENTO 2

### FORMULARIO DE EVALUACIÓN DE ANÁLISIS SENSORIAL Y REGULATORIO DE BEBIDAS ARTESANALES DE CASAS NATURISTAS DE CERCAO DE LIMA – 2024.

#### Información general

1.1. Fecha: \_\_\_\_\_

1.2. Evaluador: \_\_\_\_\_

1.3. Bebida nutracéutica evaluada: \_\_\_\_\_

#### 1.4. Evaluación sensorial

##### Aspecto general

###### Color

- a) Muy desagradable
- b) Desagradable
- c) Neutral
- d) Agradable
- e) Muy agradable

- c) Neutral
- d) Agradable
- e) Muy agradable

###### Claridad

- a) Muy turbio
- b) Turbio
- c) Neutral
- d) Claro
- e) Muy claro

###### Sabor

###### Intensidad del sabor

- a) Muy débil
- b) Débil
- c) Neutral
- d) Fuerte
- e) Muy fuerte

###### Aroma

###### Agradabilidad del sabor

- a) Muy desagradable
- b) Desagradable
- c) Neutral
- d) Agradable
- e) Muy agradable

###### Intensidad del aroma

- a) Muy débil
- b) Débil
- c) Neutral
- d) Fuerte
- e) Muy fuerte

###### Equilibrio de sabores

- a) Muy desequilibrado
- b) Desequilibrado
- c) Neutral
- d) Equilibrado
- e) Muy equilibrado

###### Agradabilidad del aroma

- a) Muy desagradable
- b) Desagradable

**Textura y sensación en boca****Suavidad/Grano**

- a) Muy áspero
- b) Áspero
- c) Neutral
- d) Suave
- e) Muy suave

**Sensación en boca**

- a) Muy desagradable
- b) Desagradable
- c) Neutral
- d) Agradable
- e) Muy agradable

**Comentarios adicionales**

¿Qué aspectos te gustaron más de la bebida?

---

¿Qué aspectos mejorarías?

---

**Evaluación global****Preferencia general**

- a) Muy baja
- b) Baja
- c) Neutral
- d) Alta
- e) Muy alta

**Probabilidad de recomendación**

- a) Muy baja
- b) Baja
- c) Neutral
- d) Alta
- e) Muy alta

**1.5. Evaluación regulatoria**

<b>EVALUACIÓN</b>	<b>CUMPLE</b>	<b>NO CUMPLE</b>
Nombre de la bebida		
Tipo		
Marca		
Lugar de producción		
Ingredientes		
Concentración		
Lote		
Fecha de elaboración		
Fecha de vencimiento		
Laboratorio		
Registro		
Valor nutricional		
Contenido de alcohol		
Modo de uso		
Recomendaciones		
Garantía (envase)		
Envase		

**Grado de cumplimiento (Evaluación regulatoria)**

<b>PORCENTAJE CUMPLIMIENTO</b>	<b>GRADO</b>	<b>NIVEL DE CUMPLIMIENTO</b>
0% - 20%	Muy bajo (MB)	Crítico (C)
21% - 40%	Bajo (B)	Deficiente (D)
41% - 60%	Medio (M)	Parcial (P)
61% - 80%	Alto (A)	Satisfactorio (S)
81% - 100%	Muy alto (MA)	Muy satisfactorio (MS)

## Anexo 3: Validez del instrumento



Universidad  
Norbert Wiener

## CERTIFICADO DE VALIDEZ DE CONTENIDO DE LOS INSTRUMENTOS

**TÍTULO: TOXICIDAD POTENCIAL *IN VITRO* POR EL MÉTODO HET-CAM DE BEBIDAS NUTRACÉUTICAS ARTESANALES DE CASAS NATURISTAS DEL CERCADO DE LIMA - 2024**

Nº	DIMENSIONES	Pertinencia <sup>1</sup>		Relevancia <sup>2</sup>		Claridad <sup>3</sup>		Sugerencias
<b>Variable 1: Bebidas Nutracéuticas Artesanales</b>								
	<b>DIMENSIÓN 1: Tipo de exposición</b>	SI	NO	SI	NO	SI	NO	
1	Bebida Nutracéutica Artesanal	X		X		X		
2	Control positivo (Sol. NaOH)	X		X		X		
3	Control negativo (Suero fisiológico)	X		X		X		
	<b>DIMENSIÓN 2: Análisis sensorial</b>	SI	NO	SI	NO	SI	NO	
4	Sabor	X		X		X		
5	Aroma	X		X		X		
6	Color	X		X		X		
7	Apariencia	X		X		X		
8	Textura	X		X		X		
	<b>DIMENSIÓN 3: Evaluación regulatoria</b>	SI	NO	SI	NO	SI	NO	
9	Nombre de la bebida	X		X		X		
10	Tipo	X		X		X		
11	Marca	X		X		X		
12	Lugar de producción	X		X		X		
13	Concentración	X		X		X		
14	Lote	X		X		X		
15	Fecha de elaboración	X		X		X		



**Universidad  
Norbert Wiener**

16	Fecha de vencimiento	X		X		X		
17	Laboratorio	X		X		X		
18	Registro	X		X		X		
19	Valor nutricional	X		X		X		
20	Contenido de alcohol	X		X		X		
<b>Variable 2: Toxicidad (Irritación en la membrana corioalantoidea)</b>								
	<b>DIMENSIÓN 1: Efecto sobre la membrana corioalantoidea</b>	SI	NO	SI	NO	SI	NO	
21	Hemorragia	X		X		X		
22	Lisis	X		X		X		
23	Coagulación	X		X		X		
	<b>DIMENSIÓN 2: Tiempo de aparición de efectos</b>	SI	NO	SI	NO	SI	NO	
21	Tiempo hasta la aparición de hemorragia	X		X		X		
22	Tiempo hasta la aparición de lisis	X		X		X		
23	Tiempo hasta la aparición de coagulación	X		X		X		

**Observaciones (precisar si hay suficiencia):** El instrumento cumple con la suficiencia para ser aplicado.

**Opinión de aplicabilidad:** Aplicable [ X ] Aplicable después de corregir [ ] No aplicable [ ]

**Apellidos y nombres del juez validador.** Mg.: Aylas Canicela Roosevelt Edhair

**DNI:** 46699374

**Especialidad del validador:** Maestría en docencia universitaria, Maestría en Gerencia de servicios de Salud.

<sup>1</sup>**Pertinencia:** El ítem corresponde al concepto teórico formulado.



**Universidad  
Norbert Wiener**

<sup>2</sup>Relevancia: El ítem es apropiado para representar al componente o dimensión específica del constructo

<sup>3</sup>Claridad: Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo

Nota: Suficiencia, se dice suficiencia cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión



.....  
MSTRO. Q.F. NORBERT WIENER EDMAR  
QUIMICO FARMACEUTICO  
COFP: 22886



CERTIFICADO DE VALIDEZ DE CONTENIDO DE LOS INSTRUMENTOS

TÍTULO: TOXICIDAD POTENCIAL *IN VITRO* POR EL MÉTODO HET-CAM DE BEBIDAS NUTRACÉUTICAS ARTESANALES DE CASAS NATURISTAS DEL CERCADO DE LIMA - 2024

N°	DIMENSIONES	Pertinencia <sup>1</sup>		Relevancia <sup>2</sup>		Claridad <sup>3</sup>		Sugerencias
<b>Variable 1: Bebidas Nutraceuticas Artesanales</b>								
	<b>DIMENSIÓN 1: Tipo de exposición</b>	SI	NO	SI	NO	SI	NO	
1	Bebida Nutraceutica Artesanal	X		X		X		
2	Control positivo (Sol. NaOH)	X		X		X		
3	Control negativo (Suero fisiológico)	X		X		X		
	<b>DIMENSIÓN 2: Análisis sensorial</b>	SI	NO	SI	NO	SI	NO	
4	Sabor	X		X		X		
5	Aroma	X		X		X		
6	Color	X		X		X		
7	Apariencia	X		X		X		
8	Textura	X		X		X		
	<b>DIMENSIÓN 3: Evaluación regulatoria</b>	SI	NO	SI	NO	SI	NO	
9	Nombre de la bebida	X		X		X		
10	Tipo	X		X		X		
11	Marca	X		X		X		
12	Lugar de producción	X		X		X		
13	Concentración	X		X		X		
14	Lote	X		X		X		
15	Fecha de elaboración	X		X		X		



**Universidad  
Norbert Wiener**

16	Fecha de vencimiento	X		X		X		
17	Laboratorio	X		X		X		
18	Registro	X		X		X		
19	Valor nutricional	X		X		X		
20	Contenido de alcohol	X		X		X		
<b>Variable 2: Toxicidad (Irritación en la membrana corioalantoidea)</b>								
	<b>DIMENSIÓN 1: Efecto sobre la membrana corioalantoidea</b>	SI	NO	SI	NO	SI	NO	
21	Hemorragia	X		X		X		
22	Lisis	X		X		X		
23	Coagulación	X		X		X		
	<b>DIMENSIÓN 2: Tiempo de aparición de efectos</b>	SI	NO	SI	NO	SI	NO	
21	Tiempo hasta la aparición de hemorragia	X		X		X		
22	Tiempo hasta la aparición de lisis	X		X		X		
23	Tiempo hasta la aparición de coagulación	X		X		X		

**Observaciones (precisar si hay suficiencia):**

**Opinión de aplicabilidad:** Aplicable [ X ] Aplicable después de corregir [ ] No aplicable [ ]

**Apellidos y nombres del juez validador.** Mg. Chávez López Jeanneth Rosario

**DNI:** 18198374

**Especialidad del validador:** Magister en Toxicología

<sup>1</sup>**Pertinencia:** El ítem corresponde al concepto teórico formulado.



**Universidad  
Norbert Wiener**

<sup>2</sup>**Relevancia:** El ítem es apropiado para representar al componente o dimensión específica del constructo

<sup>3</sup>**Claridad:** Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo

**Nota:** Suficiencia, se dice suficiencia cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión

Lima 24 de octubre del 2024

.....  
**Mg. Jeanneth Chávez López**

**FIRMA DEL VALIDADOR**



Universidad  
Norbert Wiener

### CERTIFICADO DE VALIDEZ DE CONTENIDO DE LOS INSTRUMENTOS

**TÍTULO: TOXICIDAD POTENCIAL *IN VITRO* POR EL MÉTODO HET-CAM DE BEBIDAS NUTRACÉUTICAS ARTESANALES DE CASAS NATURISTAS DEL CERCADO DE LIMA - 2024**

N°	DIMENSIONES	Pertinencia <sup>1</sup>		Relevancia <sup>2</sup>		Claridad <sup>3</sup>		Sugerencias
<b>Variable 1: Bebidas Nutracéuticas Artesanales</b>								
	<b>DIMENSIÓN 1: Tipo de exposición</b>	SI	NO	SI	NO	SI	NO	
1	Bebida Nutracéutica Artesanal	x		x		x		
2	Control positivo (Sol. NaOH)	x		x		x		
3	Control negativo (Suero fisiológico)	x		x		x		
	<b>DIMENSIÓN 2: Análisis sensorial</b>	SI	NO	SI	NO	SI	NO	
4	Sabor	x		x		x		
5	Aroma	x		x		x		
6	Color	x		x		x		
7	Apariencia	x		x		x		
8	Textura	x		x		x		
	<b>DIMENSIÓN 3: Evaluación regulatoria</b>	SI	NO	SI	NO	SI	NO	
9	Nombre de la bebida	x		x		x		
10	Tipo	x		x		x		
11	Marca	x		x		x		
12	Lugar de producción	x		x		x		
13	Concentración	x		x		x		
14	Lote	x		x		x		
15	Fecha de elaboración	x		x		x		



**Universidad  
Norbert Wiener**

16	Fecha de vencimiento	x		x		x		
17	Laboratorio	x		x		x		
18	Registro	x		x		x		
19	Valor nutricional	x		x		x		
20	Contenido de alcohol	x		x		x		
<b>Variable 2: Toxicidad (Irritación en la membrana corioalantoidea)</b>								
	<b>DIMENSIÓN 1: Efecto sobre la membrana corioalantoidea</b>	SI	NO	SI	NO	SI	NO	
21	Hemorragia	x		x		x		
22	Lisis	x		x		x		
23	Coagulación	x		x		x		
	<b>DIMENSIÓN 2: Tiempo de aparición de efectos</b>	SI	NO	SI	NO	SI	NO	
21	Tiempo hasta la aparición de hemorragia	x		x		x		
22	Tiempo hasta la aparición de lisis	x		x		x		
23	Tiempo hasta la aparición de coagulación	x		x		x		

**Observaciones (precisar si hay suficiencia):**

**Opinión de aplicabilidad:** Aplicable [ x ] Aplicable después de corregir [ ] No aplicable [ ]

**Apellidos y nombres del juez validador.** Dr. Cristhian Neil Rodríguez Silva

**DNI:** 42846255

**Especialidad del validador:** Fisiología y biofísica/Diseño de moléculas terapéuticas

**<sup>1</sup>Pertinencia:** El ítem corresponde al concepto teórico formulado.



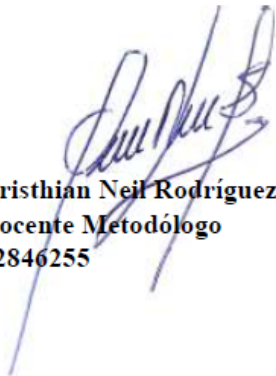
**Universidad  
Norbert Wiener**

---

<sup>2</sup>Relevancia: El ítem es apropiado para representar al componente o dimensión específica del constructo

<sup>3</sup>Claridad: Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo

**Nota:** Suficiencia, se dice suficiencia cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión



**Cristhian Neil Rodríguez Silva**  
**Docente Metodólogo**  
**42846255**

## Anexo 4: Confiabilidad del Instrumento

### Resumen de procesamiento de casos

		N	%
Casos	Válido	8	100,0
	Excluido <sup>a</sup>	0	,0
	Total	8	100,0

a. La eliminación por lista se basa en todas las variables del procedimiento.

### Estadísticas de fiabilidad

Alfa de Cronbach	N de elementos
,980	11

El valor de alfa de Cronbach del instrumento 2, es alto, lo que indica que la consistencia interna es buena.

## Anexo 5: Aprobación del comité de ética



### COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA E INTEGRIDAD CIENTÍFICA

#### CONSTANCIA DE APROBACIÓN

Lima, 15 de Diciembre de 2024

Investigador(a)  
PATRICIA FLORES ISUIZA  
Exp. N°:1208-2024

---

De mi consideración:

Es grato expresarle mi cordial saludo y a la vez informarle que el Comité Institucional de Ética e Integridad Científica de la Universidad Privada Norbert Wiener (CIEIC-UPNW) evaluó y **APROBÓ** los siguientes documentos:

- Protocolo titulado: **“TOXICIDAD POTENCIAL In Vitro POR EL MÉTODO HET-CAM DE BEBIDAS NUTRACÉUTICAS ARTESANALES DE CASAS NATURISTAS DEL CERCADO DE LIMA. 2024”** Versión 01 con fecha 16/11/2024.

El cual tiene como investigador principal al Sr(a) Patricia Flores Isuiza.

La **APROBACIÓN** comprende el cumplimiento de las buenas prácticas éticas, el balance riesgo/beneficio, la calificación del equipo de investigación y la confidencialidad de los datos, entre otros.

El investigador deberá considerar los siguientes puntos detallados a continuación:

1. **La vigencia** de la aprobación es de dos años (24 meses) a partir de la emisión de este documento.
2. **El Informe de Avances** se presentará cada 6 meses, y el informe final una vez concluido el estudio.
3. **Toda enmienda o adenda** se deberá presentar al CIEIC-UPNW y no podrá implementarse sin la debida aprobación.
4. Si aplica, **la Renovación** de aprobación del proyecto de investigación deberá iniciarse treinta (30) días antes de la fecha de vencimiento, con su respectivo informe de avance.

Es cuanto informo a usted para su conocimiento y fines pertinentes.

Atentamente,

Raúl Antonio Rojas Ortega  
Presidente

Comité Institucional de Ética e Integridad Científica  
UPNW



## Anexo 6: Informe del asesor de Turnitin

● **11% Overall Similarity**

Top sources found in the following databases:

- 10% Internet database
- 5% Publications database
- Crossref database
- Crossref Posted Content database
- 8% Submitted Works database

---

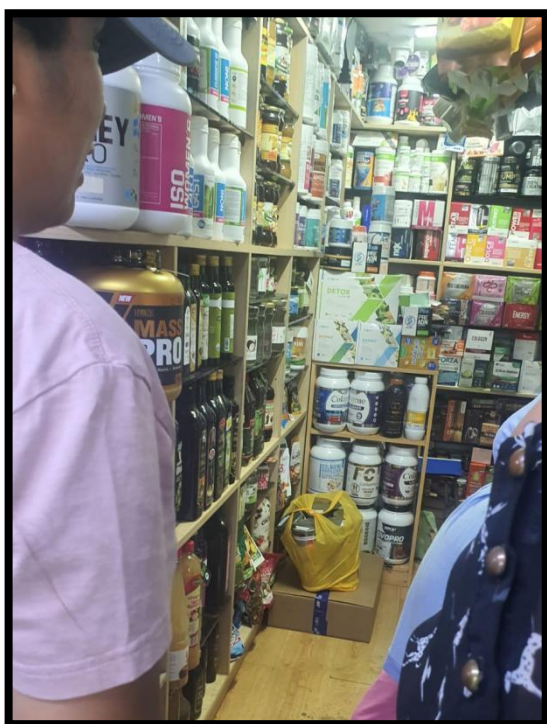
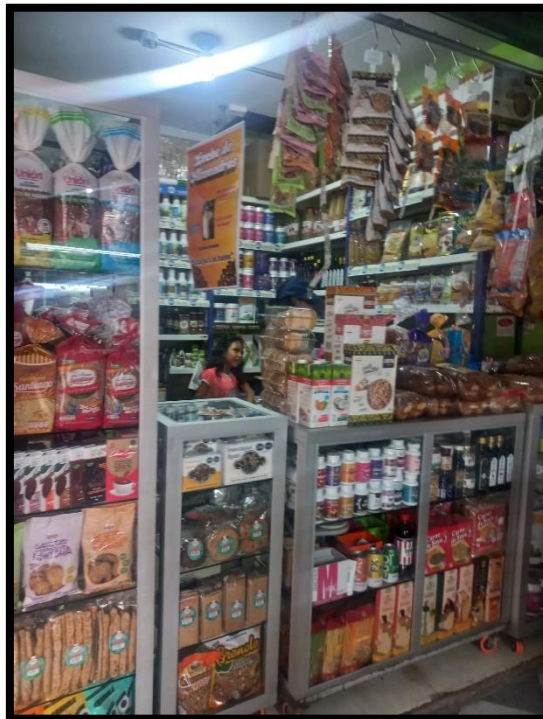
TOP SOURCES

The sources with the highest number of matches within the submission. Overlapping sources will not be displayed.

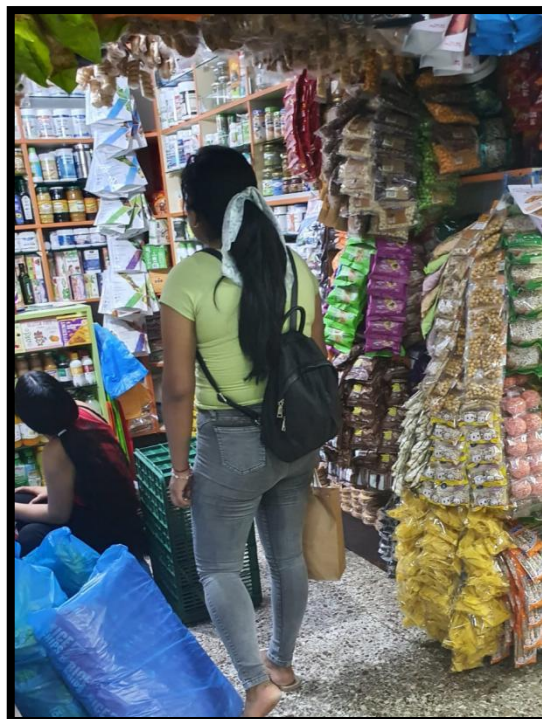
1	<b>dspace.balikesir.edu.tr</b> Internet	3%
2	<b>repositorio.uwiener.edu.pe</b> Internet	2%
3	<b>uwiener on 2025-05-10</b> Submitted works	<1%
4	<b>uwiener on 2024-06-27</b> Submitted works	<1%
5	<b>intra.uigv.edu.pe</b> Internet	<1%
6	<b>core.ac.uk</b> Internet	<1%
7	<b>pdffox.com</b> Internet	<1%
8	<b>editorialalema.org</b> Internet	<1%

Anexo 7: Imágenes (Fotografías)

Fotografías de algunas casas naturistas visitadas.



Fotografía de la recolección de bebidas nutraceuticas.



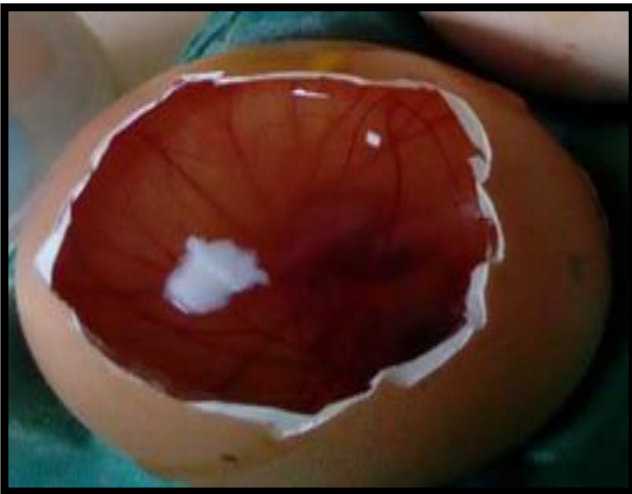
Fotografía realizando el método de HET- CAM



**Fotografía de prueba de índice de irritabilidad**



Revisión de la membrana corioalantoidea



Membrana con signos de hemorragia

## ● 11% Overall Similarity

Top sources found in the following databases:

- 10% Internet database
- 5% Publications database
- Crossref database
- Crossref Posted Content database
- 8% Submitted Works database

### TOP SOURCES

The sources with the highest number of matches within the submission. Overlapping sources will not be displayed.

1	<b>dspace.balikesir.edu.tr</b> Internet	3%
2	<b>repositorio.uwiener.edu.pe</b> Internet	2%
3	<b>uwiener on 2025-05-10</b> Submitted works	<1%
4	<b>uwiener on 2024-06-27</b> Submitted works	<1%
5	<b>intra.uigv.edu.pe</b> Internet	<1%
6	<b>core.ac.uk</b> Internet	<1%
7	<b>pdffox.com</b> Internet	<1%
8	<b>editorialalema.org</b> Internet	<1%