



UNIVERSIDAD DEL
AZUAY

**FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

**“Desarrollo de bebidas con potencial antioxidante y antirradicalario
a partir de frutos ecuatorianos”**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE INGENIERO EN ALIMENTOS**

AUTOR:

JETON BACULIMA JUAN MANUEL

DIRECTOR:

DR. PIERCOSIMO TRIPALDI

CUENCA-ECUADOR

2014

DEDICATORIA

La concepción de este proyecto está dedicada a todas las personas que de una u otra forma estuvieron conmigo, apoyándome, guiándome, aportando con un granito de arena; y es por ello que a todos y cada uno de ustedes les dedico todo mi esfuerzo, sacrificio y tiempo que entregué a esta tesis.

A Dios, por haberme dado la vida, permitirme culminar esta etapa muy importante de mi vida, y dar una paso más en mi formación profesional.

A mi padre, porque gracias a él sé que la responsabilidad, constancia, honradez son valores que debemos mantener en nuestra vida cotidiana, para alcanzar nuestras metas.

A mi madre que siempre me ha dado su cariño, amor incondicional y que a pesar de mis errores nunca perdió la fe en mí. Por enseñarme a compartir y hacer las cosas con amor.

Es por ello que soy, lo que soy ahora.

AGRADECIMIENTOS

Son muchas las personas especiales, que han sido muy importantes en esta etapa de transición, a las que me gustaría y debería agradecer su amistad, confianza, apoyo, ánimo y compañía a lo largo de mi vida. Sin importar si alguna vez llegan a leer estas palabras quiero darles las gracias por formar parte de este pequeño paso que doy en mi vida, por lo que me han brindado y enseñado.

A la Universidad del Azuay, por abrirme sus puertas, en sus aulas recibí el conocimiento intelectual, humano de cada uno de los docentes y por que no decir su amistad.

A mis compañeros que sin ellos las largas jornadas de clases no hubiera sido lo mismo.

Y un especial agradecimiento a mi Director de Tesis el Dr. Piercosimo Tripaldi por su guía, consejos y amistad.

A todos muchas gracias.

INDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
INDICE DE CONTENIDO.....	IV
INDICE DE TABLAS.....	VIII
INDICE DE FIGURAS.....	XI
INDICE DE ECUACIONES.....	XIII
RESUMEN.....	XIV
ABSTRACT.....	XV
INTRODUCCIÓN.....	1
☐	
CAPITULO 1 : ANTIOXIDANTES ☐	
☐	
1.1.☐ Generalidades	2
1.2. Oxidación	4
1.2.1 Radicales Libres.....	5
1.3. Per oxidación lipídica	5
1.4. Antioxidantes	6
1.5. Compuestos fenólicos	7
1.5.1.☐ Flavonides	8

CAPITULO 2: DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LAS FRUTAS EN ESTUDIO

2.1.	Familia Anacardiácea.....	10
2.1.1.	Spondias purpúrea L.....	10
2.1.2.	Mangifera Indica L.....	12
2.2	Familia Solanaceae.....	14
2.2.1.	Solanum muricatum Ait.....	15
2.2.2.	Solanum quitoense Lam.....	17
2.1.	Familia Ericáceae.....	19
2.3.1.	Vaccinium floribundum Kunth.....	19
2.3.2.	Macleania rupestris.....	22

CAPITULO 3: METODOLOGÍA

3.1.	Recolección y selección de las frutas en estudio.....	24
3.2.	Elaboración de los extractos en alcohol.....	25
3.2.1.	Materiales.....	25
3.2.2.	Reactivos.....	26
3.2.3.	Procedimiento.....	26
3.3.	Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH.....	27
3.3.1.	Materiales.....	28
3.3.2.	Reactivos.....	28
3.3.3.	Preparación de las soluciones.....	28
3.3.4.	Procedimiento.....	29
3.3.5.	Cálculos.....	30
3.4.	Determinación de la actividad antirradicalaria por el método del radical superóxido.....	31
3.4.1.	Materiales.....	32
3.4.2.	Reactivos.....	33
3.4.3.	Elaboración de las soluciones.....	33
3.4.4.	Procedimiento.....	34
3.4.5.	Cálculos.....	36

3.5.	Cuantificación del contenido de vitamina C por método polarográfico..	37
3.5.1.	Materiales	39
3.5.2.	Reactivos	39
3.5.3.	Elaboración de las soluciones	39
3.6.	Desarrollo de la bebida a base de fruta con potencial antioxidante.....	40
3.6.1.	Diseño experimental	41
3.6.2.	Descripción del proceso de elaboración de la bebida con potencial antioxidante	46
3.7.	Diagrama de flujo	48

CAPITULO 4: RESULTADOS

4.1.	Determinación de la actividad antioxidante por el método DDPH	50
4.1.1.	Actividad antioxidante mortiño	50
4.1.2.	Actividad antioxidante naranja	51
4.1.3.	Actividad antioxidante ciruelo	53
4.1.4.	Actividad antioxidante mango	54
4.1.5.	Actividad antioxidante joyapa	55
4.1.6.	Actividad antioxidante pepino dulce	57
4.2.	Determinación actividad antirradicalaria por el método del radical	59
4.2.1.	Actividad antirradicalaria mortiño	59
4.2.2.	Actividad antirradicalaria naranja	60
4.2.3.	Actividad antirradicalaria ciruelo	61
4.2.4.	Actividad antirradicalaria mango	62
4.2.5.	Actividad antirradicalaria joyapa	64
4.2.6.	Actividad antirradicalaria pepino dulce	65
4.3.	Determinación del contenido de vitamina C por método polarográfico..	67
4.4.	Elaboración de la bebida con potencial antioxidante y antirradicalaria.	68
4.4.1.	Resultado análisis sensorial	69
4.4.2.	Resultados Diseño de mezclas	71

CAPITULO V: DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1. Discusión.....	76
CONCLUSIONES	79
RECOMENDACIONES	80
BIBLIOGRAFÍA	81
ANEXOS.....	87

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Vitaminas con actividad antioxidante y sus fuentes alimentarias.	7
Tabla 2: Producto alimenticios con alto contenido de antioxidantes fenólicos	8
Tabla 3: Clasificación taxonómica de Spondias purpúrea L.	11
Tabla 4: Clasificación taxonómica de Mangifera Indica L.....	13
Tabla 5: Tabla componentes nutricionales del mango.....	14
Tabla 6: Clasificación taxonómica de Solanum muricatum Ait.....	16
Tabla 7: Clasificación taxonómica de <i>Solanum quitoense</i> Lam.....	17
Tabla 8: Tabla componentes nutricionales de la naranjilla.....	18
Tabla 9: Clasificación taxonómica de Vaccinium floribundum Kunth.	20
Tabla 10: Clasificación taxonómica de Vaccinium floribundum Kunth.	21
Tabla 11: Clasificación taxonómica de Macleania rupestris.	22
Tabla 12: Familia, nombre científico y nombre común de las frutas en estudio.	24
Tabla 13: Lugares y fecha de recolección	25
Tabla 14: Esquema de ensayo método DDPH.....	30
Tabla 15: Esquema de ensayo método radical superóxido	35
Tabla 16: Esquema diseño de mezclas simplex reticular aumentado	42
Tabla 17: Fórmula para la elaboración de la bebida con potencial antioxidante.....	46
Tabla 18: Resultados actividad antioxidante muestra mortiño	50
Tabla 19: Resultados actividad antioxidante muestra naranjilla.	52

Tabla 20: Resultados actividad antioxidante muestra ciruelo.	53
Tabla 21: Resultados actividad antioxidante muestra mango.....	54
Tabla 22: Resultados actividad antioxidante muestra joyapa.....	56
Tabla 23: Resultados actividad antioxidante muestra pepino dulce.....	57
Tabla 24: Actividad antioxidante de las frutas en estudio.....	58
Tabla 25: Resultados actividad antirradicalaria muestra mortiño	59
Tabla 26: Resultados actividad antirradicalaria muestra naranjilla.....	60
Tabla 27: Resultados actividad antirradicalaria muestra ciruelo	62
Tabla 28: Resultados actividad antirradicalaria muestra mango	63
Tabla 29: Resultados actividad antirradicalaria muestra joyapa	64
Tabla 30: Resultados actividad antirradicalaria muestra pepino dulce.....	65
Tabla 31: Actividad antirradicalaria de las frutas en estudio.....	67
Tabla 32: Contenido de vitamina C de las frutas en estudio.	67
Tabla 33: Resultados frutas con mayor actividad.....	68
Tabla 34: Resultados análisis sensorial experimento 1.	69
Tabla 35: Resultados análisis sensorial experimento 2.	69
Tabla 36: Resultados análisis sensorial experimento 3.	69
Tabla 37: Resultados análisis sensorial experimento 4.	70
Tabla 38: Resultados análisis sensorial experimento 5.	70
Tabla 39: Resultados análisis sensorial experimento 6.	70

Tabla 40: Resultados análisis sensorial experimento 7.	70
Tabla 41: Resultados análisis sensorial experimento 8.	71
Tabla 42: Resultados análisis sensorial experimento 9.	71
Tabla 43: Resultados análisis sensorial experimento 10.	71
Tabla 44: Resultados diseño de mezclas.....	72
Tabla 45: Modelo matemático para aceptación.	72
Tabla 46: Modelo matemático para IC50.	73
Tabla 47: Modelo matemático para función deseabilidad.....	74

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Diferencias básicas de las agluconas de los flavonoides	8
Figura 2: Estructura básica de las subclases de flavonoides	9
Figura 3: Spondias purpúrea L (ciruelo).....	10
Figura 4: Mangifera Indica L (mango)	12
Figura 5: Solanum muricatum Ait (pepino dulce).....	15
Figura 6: Solanum quitoense Lam (naranjilla)	17
Figura 7: Vaccinium floribundum Kunth (mortiño).....	19
Figura 8: Macleania rupestris (joyapa).....	22
Figura 9: Frutos utilizados	25
Figura 10: Proceso de obtención de los extractos en alcohol	26
Figura 11: Reacciones con DDPH (Pelaez, 2009).....	27
Figura 12: Proceso método DDPH	30
Figura 13: Reacciones Hipoxantina.....	31
Figura 14: Reacciones método radical superóxido (NTB)	32
Figura 15: Proceso método radical superóxido	36
Figura 16: Señal de excitación aplicada en VPD (Protti, 2001, pp12)	38
Figura 17: Comportamiento típico de la curva en VPD, en determinación de Ácido ascórbico.....	38
Figura 18: Proceso cuantificación vitamina C.....	40
Figura 19: Diseño de mezclas simplex reticular aumentado.	41

Figura 20: Grafica función deseabilidad (aceptación).....	45
Figura 21: Grafica función deseabilidad (IC50).....	45
Figura 22: Diagrama de flujo elaboración bebida	48
Figura 23: Elaboración bebidas	49
Figura 24: Concentración (ppm) vs. Absorbancia muestra mortiño (517nm).....	51
Figura 25: Concentración (ppm) vs. Absorbancia muestra naranjilla (517nm)	52
Figura 26: Concentración (ppm) vs. Absorbancia muestra ciruelo (517nm)	54
Figura 27: Concentración (ppm) vs. Absorbancia muestra mango (517nm)	55
Figura 28: Concentración (ppm) vs. Absorbancia muestra joyapa (517nm).....	56
Figura 29: Concentración (ppm) vs. Absorbancia muestra mango (517nm)	58
Figura 30: Tiempo (minutos) vs. Absorbancia muestra mortiño (517nm).....	60
Figura 31: Tiempo (minutos) vs. Absorbancia muestra naranjilla (517nm)	61
Figura 32: Tiempo (minutos) vs. Absorbancia muestra ciruelo (517nm)	62
Figura 33: Tiempo (minutos) vs. Absorbancia muestra mango (517nm).....	63
Figura 34: Tiempo (minutos) vs. Absorbancia muestra joyapa (517nm).....	65
Figura 35: Tiempo (minutos) vs. Absorbancia muestra pepino dulce (517nm).....	66
Figura 36: Comportamiento de la curva para determinación del	68
Figura 37: Grafica contorno de mezclas para IC50	74
Figura 38: Grafica contorno de mezclas para función deseabilidad total.....	75

INDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1: Fórmula para la elaboración de las diluciones	28
Ecuación 2: Fórmula para calcular el % de decoloración.....	31
Ecuación 3: Fórmula para calcular el IC50.....	31
Ecuación 4: Fórmula para calcular el % de atrapamiento del anión superóxido	36
Ecuación 5: Fórmula modelo matemático lineal	42
Ecuación 6: Ecuación matricial	43
Ecuación 7: Cálculo de los coeficientes del modelo.....	43
Ecuación 8: Fórmula modelo matemático cuadrático.....	44
Ecuación 9: Función utilidad y punto óptimo simultaneo	46

“DESARROLLO DE BEBIDAS CON POTENCIAL ANTIOXIDANTE Y ANTIRRADICALARIO A PARTIR DE FRUTOS ECUATORIANOS”

RESUMEN

En este estudio se evaluaron seis frutas Ecuatorianas: *Spondias purpúrea L*, *Mangifera indica L*, *Solanum muricatum Ait*, *Solanum quitoense Lam*, *Vaccinium floribundum Kunth*, *Macleania rupestris*. Mediante ensayos “*in vitro*”, se determinó la actividad antioxidante con el método DPPH (1,1-difenil-2-picril hidrazilo), la actividad antirradicalaria se determinó mediante el método del radical superóxido y el contenido de vitamina C mediante método polarográfico. Las frutas que presentaron mejores resultados se utilizaron para la elaboración de la bebida, con potencial antioxidante. La producción de la bebida, se realizó cumpliendo los parámetros establecidos por las normas INEN 2337:2008. Para la formulación se aplicó un diseño de mezclas simplex reticular aumentado, en el cual las variables fueron la aceptación y la actividad antioxidante, a partir de estos 2 resultados, se obtuvo la función utilidad, con el fin de buscar la bebida más eficiente en aceptación y actividad antioxidante.

Palabras clave: *Spondias purpúrea L*, *Mangifera indica L*, *Solanum muricatum Ait*, *Solanum quitoense Lam*, *Vaccinium floribundum Kunth* , *Macleania rupestris*, *Anacardiaceae*, *Ericaceae* y *Solanaceae*, antioxidante, antirradicalaria, superóxido, polarográfico.



.....
Ing. Fausto Tobías Parra Parra
DIRECTOR DE ESCUELA



.....
Dr. Piercosimo Tripaldi
DIRECTOR



.....
Juan Manuel Jeton Baculima
AUTOR

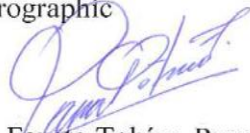
**"PRODUCTION OF DRINKS WITH ANTIOXIDANT POTENTIAL AND
ANTIRRADICALARIO FROM ECUADORIAN FRUITS"**

ABSTRACT

This study evaluated six Ecuadorian fruits: *Spondias purpúrea L*, *Mangifera indica L*, *Solanum muricatum Ait*, *Solanum quitoense Lam*, *Vaccinium floribundum Kunth*, *Macleania rupestris*. By means of "in vitro" testing and using DPPH method (1,1-diphenyl-2-picryl hidrazilo), we were able to determine the antioxidant activity. The antiradical activity was determined by the superoxide radical method and the content of vitamin C by polarographic method.

The fruit that showed better results were used to prepare the beverage with antioxidant potential. The production of the drink was made in compliance with the parameters set by INEN 2337: 2008 standards. For its formulation an increased simplex lattice mixture design was applied; the variables were acceptance and antioxidant activity. The utility function was obtained from these two results in order to find the most effective drink in regard to acceptance and antioxidant activity.

Keywords: *Spondias purpurea L*, *Mangifera indica L*, *Solanum muricatum Ait*, *Solanum quitoense Lam*, *Vaccinium floribundum Kunth*, *Macleania rupestris*, *Anacardiaceae*, *Ericaceae* y *Solanaceae* antioxidant, antiradical, superoxide, polarographic



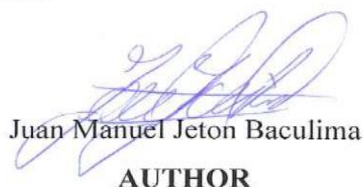
Ing. Fausto Tobías Parra Parra

SCHOOL DIRECTOR



Dr. Piercosimo Tripaldi

THESIS DIRECTOR




Juan Manuel Jeton Baculima

AUTHOR



UNIVERSIDAD DEL
AZUAY
DPTO. IDIOMAS



Translated by,
Lic. Lourdes Crespo

Jeton Baculima Juan Manuel

Trabajo de Graduación

Dr. Piercosimo Tripaldi

Septiembre 2014.

“DESARROLLO DE BEBIDAS CON POTENCIAL ANTIOXIDANTE Y ANTIRRADICALARIO A PARTIR DE FRUTOS ECUATORIANOS”

INTRODUCCIÓN

Para el desarrollo de bebidas con potencial antioxidante, es importante conocer sobre el estrés oxidativo, que es causado por un exceso de oxidación. La oxidación o reacción redox (oxidación-reducción) es un proceso, que es imprescindible para la vida, ya que interviene en la obtención de la energía celular. Sin embargo el problema se da cuando hay un exceso de oxidación, el cual es causante del estrés oxidativo, mismo que se le a vinculado como causa de padecer varias enfermedades. (Elejalde , 2001)

Los radicales libres, se producen por medio de reacciones redox con oxígeno, que tienen lugar en el metabolismo celular, sin embargo también se forman moléculas reactivas, que provocan daño oxidativo a macromoléculas como: proteínas, lípidos y también alteran el ADN (los genes). Con el tiempo los radicales libres pueden causar una alteración genética sobre las células que se dividen continuamente contribuyendo a aumentar el riesgo de padecer varias enfermedades. Es por esto que es de vital importancia la acción de los antioxidantes, ya que estos neutralizan la acción de los radicales libres, desempeñando una función primordial en la prevención de padecer varias enfermedades. (Pineda y col, 1999).

Las frutas tienen un rol muy importante en la dieta humana, donde según estudios, se demuestra que al consumir un alto porcentaje de frutas, se logra tener una menor incidencia de padecer ciertas enfermedades, esto es debido a su alto contenido de micronutrientes como: vitaminas, minerales y antioxidantes, mismos que ayudan a neutralizar el efecto, que causa el estrés oxidativo. (García y col, 2009)

En los últimos años, se muestra que las tendencias de consumo hacia una nueva gama de alimentos viene en aumento, mismos que además de brindar un valor nutritivo, ofrezcan beneficios para la salud. Sin embargo, una parte considerable de la población mundial aun las consume en cantidades insuficientes, generando así una nueva plaza para el desarrollo de nuevos productos a base de frutas, de fácil consumo, parecidos sensorialmente al producto fresco, con una vida útil más prolongada y al mismo tiempo que garantice un adecuado aporte nutritivo y así

contrarrestar el bajo consumo de frutas ya la vez brindar a los consumidores los beneficios que éstos aportan ala salud. (Alvidrez y col, 2002)

Además de sus beneficios para la salud las frutas y sus derivados son productos de gran interés para el comercio mundial, debido a que constituye importantes fuentes de ingreso en numerosos países, especialmente en los países en desarrollo. El Ecuador es un país rico en flora y fauna, tiene gran variedad de frutas y muchas de estas, no son aprovechadas en su totalidad, debido a que no se conoce sus propiedades y beneficios, por lo que se ha visto la necesidad de conocer más acerca de estas frutas, con el fin de aprovechar sus propiedades, en el desarrollo de nuevos productos como bebidas funcionales, etc. Y así mejorar las condiciones socioeconómicas de las distintas comunidades que lo cultivan.

En el presente estudio se trabajó con 6 frutas Ecuatorianas: *Spondias purpúrea L*, *Mangifera indica L*, *Solanum muricatum Ait*, *Solanum quitoense Lam*, *Vaccinium floribundum Kunth*, *Macleania rupestris*, de las cuales, las tres frutas con mayor actividad antioxidante, se utilizaron como materia prima para la elaboración de una bebida con potencial antioxidante.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Formular bebidas a partir de mezclas de jugos de frutas potenciando su actividad antioxidante y antirradicalaria.

Objetivos Específicos

- Determinar la actividad antioxidante y antirradicalaria de los frutos en estudio mediante ensayos “in vitro”.
- Establecer los parámetros de calidad de los jugos de las frutas que presenten mejor actividad antioxidante.
- Desarrollar mezclas de jugos y establecer su potencial antioxidante y aceptación mediante análisis sensorial.

CAPITULO 1

ANTIOXIDANTES

1.1 Generalidades

Los antioxidantes son compuestos que ayudan a combatir, retrasar e impedir la oxidación que se produce en nuestro organismo, inhibiendo la propagación de las reacciones de oxidación. En general, hay dos categorías básicas de antioxidantes: los naturales y los sintéticos. Los investigadores han puesto mayor interés en la búsqueda de antioxidantes naturales, para el uso en alimentos y medicamentos, ya que los sintéticos están siendo restringidos debido a su potencial efecto contra la salud humana. (Reyna, 2012)

Es significativo resaltar, que los antioxidantes naturales se encuentran presentes en frutas y vegetales, debido a su alto contenido de micronutrientes. La alta capacidad antioxidante que posee las frutas se debe a su alto contenido de micronutrientes de entre los cuales los principales son: vitaminas E, C y carotenos, así como los diferentes polifenoles. (Schieber et al., 2001)

Según Schieber, dice que los antioxidantes, funcionan de manera muy similar a las enzimas; aumentando la velocidad de ruptura de los radicales libres. Los radicales libres están implicados en la generación de estrés oxidativo, que se asocia en la incidencia de padecer enfermedades degenerativas. Es por esto que los antioxidantes son de vital importancia ya que estos inhiben la acción de los radicales libres, los cuales se les asocia en la incidencia de padecer varias enfermedades. (Schieber et al., 2001)

1.2 Oxidación

Conocida como reacción redox (reducción - oxidación) reacción en la cual se produce pérdida de electrones y captación de oxígeno, proceso vital en la obtención de energía celular. Sin embargo el oxígeno que es vital para la vida, es también causa de la formación de radicales libres mismos que afectan el funcionamiento normal del organismo ocasionando varias enfermedades, debido a que los radicales libres

afectan a macromoléculas y al ADN. Ocasionando a su vez el estrés oxidativo, causado por el exceso de radicales libres. (Ferreira, 1998).

Según varios autores se ha vinculado al estrés oxidativo como posible causa de padecer varias enfermedades como: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (Fernández et al. 2002), Hipertensión arterial (Elejalde, 2006), Aterosclerosis (Vega, 2009), Enfermedad Cardiovascular (Vega, 2009), Cáncer (Vega, 2009), Enfermedad de Parkinson, de Alzheimer y otras demencias (Vega, 2009), Cirrosis, insuficiencia hepática y hepatopatía alcohólica (Elejalde, 2006), Diabetes mellitus: (Marín et al. 2003) entre otras.

1.2.1 Radicales Libres

Los radicales libres son moléculas muy inestables, debido a que poseen un electrón libre, esto les convierte en moléculas muy reactivas, es decir que reaccionan fácilmente con cualquier molécula, esto sucede hasta que la molécula alcance su estabilidad. Por lo tanto si la molécula logra captar un electrón de otra molécula, esta a su vez quedará inestable y se convertirá en un radical libre también. De esta forma se realiza una reacción en cadena ocasionando daño a macromoléculas y al ADN celular. (Finkel & Holbrook, 2000).

Estas reacciones se producen a menudo en nuestro organismo, ocasionando un desbalance entre oxidantes y antioxidantes. Por lo cual es necesario una dieta rica en antioxidantes, la cual nos ayude a regular este desbalance y así brindar al organismo una adecuada protección antioxidante. (Finkel & Holbrook, 2000)

1.3 Peroxidación lipídica

Los antioxidantes, pueden formar complejos estables frenando la acción catabólica de los radicales libres en la membrana celular. (Avello & Suwalsky, 2006).

Todas las células están rodeadas por una membrana que las separa del medio extracelular. La membrana celular contiene proteínas que juegan papeles vitales en la interacción de la célula junto con otras células, hormonas y agentes reguladores del líquido extracelular. La estructura primordial de todas las membranas biológicas es la bicapa lipídica, la que actúa como una barrera de permeabilidad selectiva. Estas son

ricas en ácidos grasos poliinsaturados y por lo tanto vulnerables al ataque de radicales libres que traen como consecuencia la peroxidación lipídica. Esta es generalmente inducida por un radical hidroxilo, que sustrae un hidrógeno a la cadena lateral de un ácido graso formando un radical carbonado, lo que genera una cadena de reacciones oxidativas.

1.4 Antioxidantes

Un antioxidante, es una molécula que tiene la capacidad de retardar o inhibir la acción oxidante de los radicales libres, cediendo electrones a las moléculas inestables (radicales libres). El antioxidante, cede el electrón oxidándose y convirtiéndose en un radical libre débil, el cual no causa daño a la célula. (Finkel & Holbrook, 2000).

Sin embargo el problema se da cuando hay un exceso de radicales libres, el cual muchas de las veces es causado por factores externos como: el smock, la contaminación, el cigarrillo, la mala alimentación, el consumo de aceites, margarina, el consumo de ácidos grasos trans presentes en un 4% en la grasa de la carne (bovina), como los presentes en la leche los cuales contribuyen al aumento de radicales libres en nuestro cuerpo. (Finkel & Holbrook, 2000).

Cabe mencionar que no solo en las frutas hay antioxidantes, sino también podemos encontrarlos en el plasma sanguíneo, donde los más importantes son: la transferrina, lactoferrina, ceruloplasmina y albúmina. Existen también ciertos minerales que desempeñan un rol importante como antioxidantes, entre los cuales los más relevantes son el selenio y zinc (Vega, 2009).

La capacidad antioxidante celular está dada por mecanismos a través de los cuales la célula anula la reactividad y/o inhibe la generación de radicales libres. Estos mecanismos son adecuados a la corta vida de los radicales libres y comprenden moléculas pequeñas, endógenas y exógenas con capacidad antioxidante. Los antioxidantes exógenos provienen de la dieta, los cuales los más importantes son vitaminas, carotenos. Dentro de las vitaminas, la vitamina C, es el antioxidante hidrosoluble más abundante en la sangre, mientras que la vitamina E es el antioxidante lipofílico mayoritario. Las vitaminas C y E se pueden encontrar en varios alimentos según se detalla en la tabla 1. (Avello & Suwalsky, 2009)

Tabla 1: Vitaminas con actividad antioxidante y sus fuentes alimentarias.

Vitaminas	Fuente Alimentaria	
Vitamina E	Fuentes más importantes	Aceites vegetales, aceite de semillas prensadas en frío, germen de trigo y de maíz, almendras, avellanas, girasol, frijol de soya, nuez, maní.
	Otras fuentes significativas	Papas frescas, pimentón, palta, apio, repollo, frutas, pollo, pescado.
Vitamina C	Frutas	Límon, lima, naranja, guayaba, mango, kiwi, fresa, papaya, mora, piña.
	Verduras	Tomate, verduras de hojas verdes (espinacas, perejil, hojas de rábano), repollo, coliflor, brócoli, pimentón, lechuga.
Carotenoides	Betacaroteno	Verduras y frutas amarillas y anaranjadas, verduras verde oscuro.
	Alfacaroteno	Zanahoria
	Licopeno	Tomate
	Luteína y zexantina	Verduras de hoja verde oscuro, brócoli.

Fuente: Avello & Suwalsky, 2009

Últimamente se han descubierto en algunos alimentos otros antioxidantes, no nutrientes, que son los compuestos fenólicos. Algunas fuentes son los frijoles (isoflavonas), cítricos (flavonoides), cebolla (quercetina) y polifenoles (aceitunas). También se han encontrado algunos antioxidantes fenólicos en el café, vino tinto y te.

1.5 Compuestos fenólicos

Los fenoles son compuestos orgánicos, los cuales tienen en su estructura química al menos un grupo fenol, estos se encuentran abundantemente en la naturaleza en plantas y vegetales. Dentro de estos los más importantes son: los flavonoides, los ácidos fenólicos y los polifenoles. (Tabla 2).

Tabla 2: Producto alimenticios con alto contenido de antioxidantes fenólicos

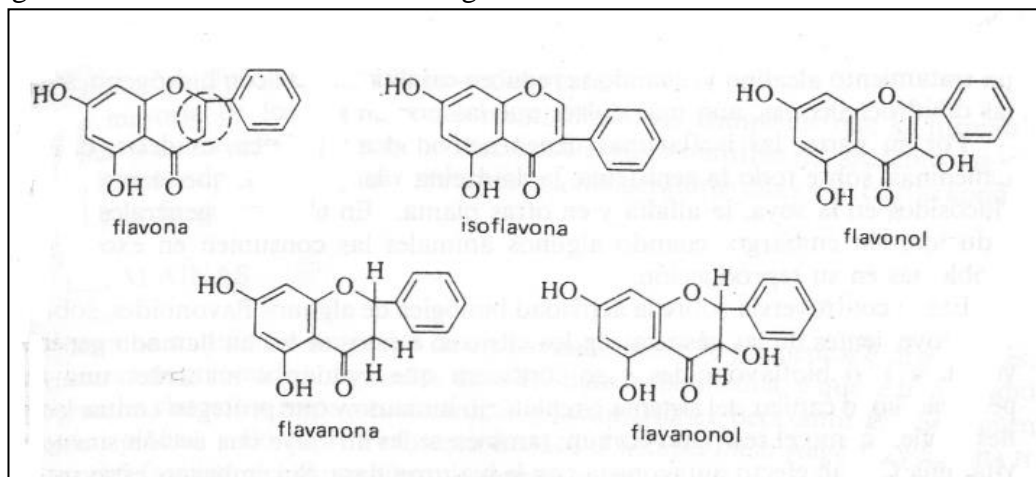
Producto	Antioxidante
Frijol de soya	Isoflavonas, ácidos fenólicos
Té verde, té negro	Polifenoles, catequinas
Café	Esteres fenólicos
Vino tinto	Ácidos fenólicos, polifenoles
Romero	Ácido carnósico, ácido rosmárico
Cítricos y otras frutas	Bioflavonoides, chalconas
Cebollas	Quercetina, camferol
Aceitunas	Polifenoles

Fuente: Avello & Suwalsky, 2009

1.5.1 Flavonoides

Químicamente, estas sustancias son de naturaleza fenólica. Son glúcidos formados por una aglucona, en muchos casos deriva de la 2-fenilbenzopirona. Las principales agluconas son: el flavonol, la flavona, isoflavona, la flavanona, el flavanonol, las chalconas y los biflavonilos (Badui, 2006).

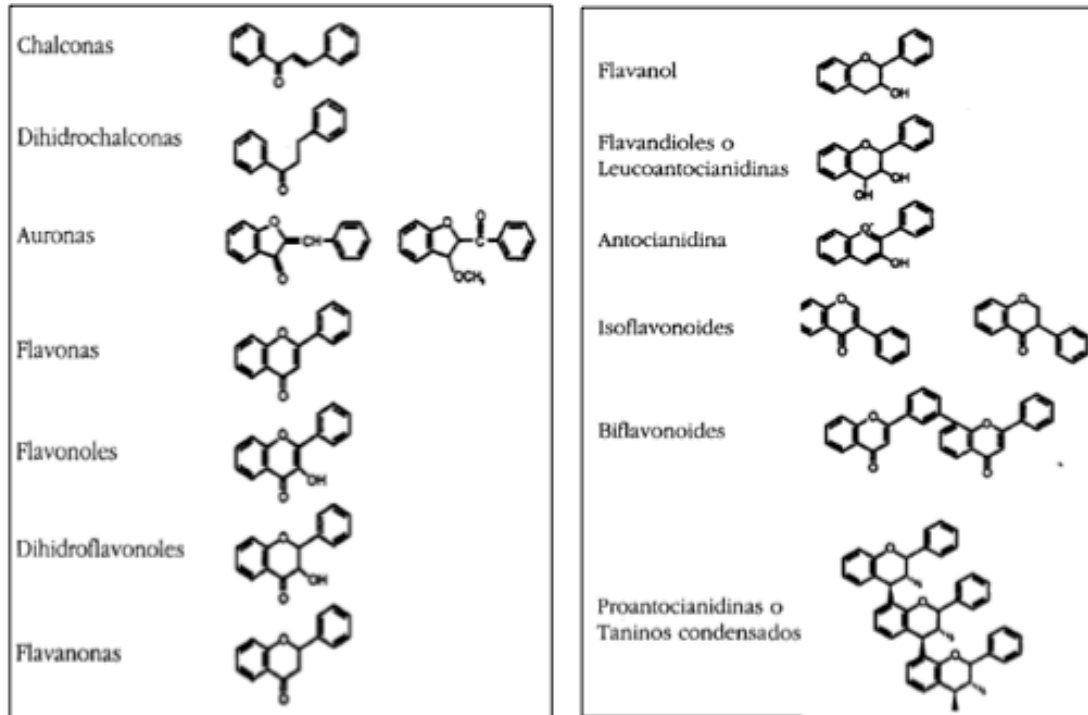
Figura 1: Diferencias básicas de las agluconas de los flavonoides



Fuente: Badui, 2006.

Los flavonoides se dividen en 13 subclases con un total de más de 5000 compuestos. Para un mayor entendimiento se expone las estructuras básicas de cada una de las subclases en la figura 2.

Figura 2: Estructura básica de las subclases de flavonoides



Fuente: Pérez y Martínez, 2001

CAPITULO 2

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LAS FRUTAS EN ESTUDIO

En este capítulo se presenta las propiedades botánicas, taxonómicas, morfológicas, bromatológicas, así como sus aplicaciones y usos en general, de las especies en estudio: *Spondias purpúrea* L, *Mangifera indica* L, *Solanum muricatum* Ait, *Solanum quitoense* Lam, *Vaccinium floribundum* Kunth, *Macleania rupestris*.

2.1 Familia Anacardiácea

La familia Anacardiácea, esta conformada de 72 géneros, con aproximadamente 600 especies, las cuales en su gran mayoría se desarrollan en zonas tropicales, y subtropicales. Dentro de esta familia la clase más común es el arbóreo, seguido del arbustivo y de las lianas, muy pocas especies son herbáceos. Una particularidad propia de esta familia es la presencia de canales resiníferos en la corteza, cuya resina es clara pero al contacto con el ambiente tiende a ennegrecer. Generalmente las características que poseen esta familia es que son de flores pequeñas, actinomorfas pentámeras y unisexuales, por lo general se encuentran en inflorescencias determinadas, complejas o cimosas, tanto los sépalos como los pétalos tienden a estar separados. (Martínez & Cevallos, 2005)

2.1.1 *Spondias purpúrea* L

Figura 3: *Spondias purpúrea* L (ciruelo)



Fuente: Google imágenes

2.1.1.1 Descripción taxonómica

Tabla 3: Clasificación taxonómica de *Spondias purpúrea L.*

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Rosidae
Orden:	Sapindales
Familia:	Anacardiaceae
Género:	Spondias
Especie:	<i>S. purpurea L.</i>
Nombre común:	Ciruelo

Fuente: Álvarez, 2010

2.1.1.2 Características

La especie *Spondias purpurea L.*, conocida comúnmente como ciruelo, se cultiva en varias zonas del Ecuador principalmente en lugares de clima cálido, la región donde más se cultiva este fruto es en costa, principalmente en el provincia del Guayas. (Valverde, FM 1998)

Spondias purpurea L es un árbol que tiene una altura aproximada de 15 metros, entre sus características podemos decir que tiene hojas compuestas imparipinnadas con una vaina intermarginal. Las flores son generalmente pequeñas, mismas que pueden variar el color dependiendo de la época, la zona donde se cultive y clase, estas pueden ir desde un color blanco amarillento hasta un rojo intenso. En cuanto al fruto podemos indicar que es una drupa pequeña de aproximadamente 5 cm de largo, de varios colores que pueden ir desde un amarillo rojizo hasta un rojo intenso, esto siempre va a depender del tipo y del grado de madurez. La semilla es amarilla y fibrosa de aproximadamente uno 3 a 4 cm de largo. (Kostermans, 1991).

Entre sus principales características nutricionales, podemos decir que es fuente importante de: vitamina C, minerales como: potasio y calcio, así como de compuestos antioxidantes como fenoles y carotenoides.(Alfá et al., 2012)

2.1.1.3 Aplicaciones

El fruto de la *Spondias purpurea L.*, debido un sabor muy agradable principalmente se lo consume como directamente como fruto fresco. Sin embargo también se usa en la preparación de productos procesados como: mermeladas, jaleas, jugos etc..

En las regiones del norte de Centroamérica, se utiliza los brotes nuevos y hojas como verduras mismas que se consumen crudas o cocinadas. También el fruto y las hojas son empleados en infusión como astringente. (Valverde, FM 1998)

2.1.2 Mangifera Indica L

Figura 4: *Mangifera Indica L* (mango)



Fuente: Google imágenes

2.1.2.1 Descripción taxonómica

Tabla 4: Clasificación taxonómica de *Mangifera Indica L.*

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Rosidae
Orden:	Sapindales
Familia:	Anacardiaceae
Género:	Mangífera
Especie:	M. Indica
Nombre común:	Mango

Fuente: Torres, 2007

2.1.2.2 Características

La especie *Mangifera indica L.*, conocido generalmente como mango, se cultiva en lugares de clima cálido, principalmente en la región de la costa Ecuatoriana.

Mangifera indica L., es un especie que tiene arboles grandes, de aproximadamente 10 a 20 metros de altura, con una copa redonda, densa de color verde, con un tronco recto con grietas alargadas, más o menos de 75 a 100 cm de diámetro, con la corteza de color gris - café. Las hojas son alternas y espaciadas irregularmente a lo largo de las ramitas, son de color verde de un tamaño de 10 a 20 cm de largo y de 2 a 10 cm de ancho. El fruto es una drupa generalmente de forma ovoide de color verde o amarillo con tonalidades rojas, de tamaño moderado con un peso que puede variar desde los 200 g hasta 2000 g. (Galán-Saúco, 1999).

En cuanto a su valor nutritivo podemos decir que es una fruta rica en agua, azúcares, fibra, minerales, vitaminas y antioxidantes (Tabla 5), mismos que ayudan a combatir el estrés oxidativo. (Martínez, 2006).

2.1.2.3. Componentes Nutricionales

Tabla 5: Tabla componentes nutricionales del mango (cantidades dadas para 100 g de pulpa fresca)

Componente	Contenido
Aqua	81,7 g
Energía	65 kcal
Grasa	0,45 g
Proteína	0,51 g
Hidratos de carbono	17 g
Fibra	1,8 g
Potasio	156 mg
Fósforo	11 mg
Hierro	0,13 mg
Sodio	0 mg
Magnesio	9 mg
Calcio	10 mg
Cobre	0,11 mg
Cinc	0,04 mg
Selenio	0,6 mcg
Vitamina C	27,7 mg
Vitamina A	3,894 UI
Vitamina B1 (Tiamina)	0,058 mg
Vitamina B2 (Riboflavina)	0,057 mg
Vitamina B3 (Niacina)	0,58 mg
Vitamina B6 (Piridoxina)	0,134 mg
Vitamina E	0,100 mg
Ácido fólico	14 mcg

Fuente: Torres, 2007

2.1.2.4. Aplicaciones

El mango es una fruta de gran importancia comercial, debido a que con este fruto se realizan un gran cantidad de productos como: jugos, néctares, conservas, purés, frutas deshidratadas, helados, productos congelados, etc.

También debido a su sabor se lo consume como fruta fresca.(Torres, 2007)

2.2 Familia Solanaceae

La familia Solanaceae, es una familia bastante grande, comprendida de 98 géneros, con aproximadamente unas 2700 especies. Son una familia de plantas herbáceas, con las hojas alternas, simples y sin estípulas pertenecientes al orden *Solanales*, de las dicotiledóneas (*Magnoliopsida*). Al ser una familia con una gran diversidad de especies, mismas que se desarrollan en varias zonas con diferentes climas, es decir se

encuentran alrededor de todo el mundo, sin embargo la mayor diversidad de especies se halla en América del Sur y América Central.

Dentro de esta familia hay especies muy importantes, que son de gran importancia en la alimentación humana como: la papa o patata (*Solanum tuberosum*), el tomate (*Solanum lycopersicum*), la berenjena (*Solanum melongena*), los ajíes o pimientos (*Capsicum*), tamarillo o tomate árbol (*Cyphomandra betacea*), el tomatillo (*Physalis pruinosa*) y el pepino de fruta (*Solanum muricatum*). (Cabañas y col, 2005)

2.2.1 *Solanum muricatum* Ait

Figura 5: *Solanum muricatum* Ait (pepino dulce)



Fuente: Google imágenes

2.2.1.1. Descripción taxonómica

Tabla 6: Clasificación taxonómica de *Solanum muricatum* Ait

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Solanoideae
Orden:	Solanales
Familia:	Solanaceae
Género:	<i>Solanum</i>
Especie:	<i>S. muricatum</i> .
Nombre común:	Pepino dulce

Fuente: Nuez y col, 1996.

2.2.1.2. Características

La especie *Solanum muricatum* Ait., conocida en Ecuador como pepino dulce, es una especie que se desarrolla en climas, algo húmedo y caluroso, es decir se desarrolla en zonas tropicales y subtropicales del país.

Es una herbácea muy ramificada con una altura entre 0.6 a 1.6 m, el cuanto al fruto podemos decir que es una baya de 8-12 cm de largo, de color blanco amarillento con rayas longitudinales purpuras. Este cultivo prefiere suelos bien drenados, de fertilidad media, tiene buena tolerancia a las sales. Esta especie es usualmente propagado vegetativamente por estacas. Lo tradicional es plantar este cultivo en hileras separadas a 1 m e igual distancia entre plantas.(Nuez y col, 1996)

Dentro de los principales componentes nutricionales podemos indicar que el fruto del pepino dulce, contiene una gran cantidad de agua con aproximadamente un 92%, con un aporte de calorías muy pequeño, ya que contiene 7% de carbohidratos y vitamina C en una proporción de 29 mg por 100 g.(Nuez y col, 1996)

2.2.1.3. Aplicaciones

El pepino dulce debido a su suave aroma y sabor ligeramente dulce se consume generalmente en forma directa como fruta fresca, pero también puede consumirse en

ensaladas y en algunas ocasiones en zumos o postres más elaborados. (Nuez y col, 1996)

2.2.2 *Solanum quitoense* Lam

Figura 6: *Solanum quitoense* Lam (naranjilla)



Fuente: Revelo, 2010

2.2.2.1 Descripción taxonómica

Tabla 7: Clasificación taxonómica de *Solanum quitoense* Lam

Reino:	Plantae
División:	Angiospermae
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Asteridae
Orden:	Solanales
Familia:	Solanaceae
Género:	<i>Solanum</i>
Especie:	<i>S. quitoense</i>
Nombre común:	Naranjilla

Fuente: Revelo, 2010

2.2.2.2 Características

La especie *Solanum quitoense* Lam, conocida como naranjilla crece entre los 1000 a 2000 metros de altura sobre el nivel del mar, encontrándose también en las estribaciones de la amazonía ecuatoriana. (Ochse *et al.* 1980)

La planta es una herbácea, robusta de 1.8 a 3 m de altura, con corteza de color gris, hojas grandes, gruesas, ovadas y dentadas de color verde con nervaduras de color púrpura en el haz, de hasta un tamaño de 45 cm de largo. Toda la planta, excepto el haz de las hojas, tiene pubescencia lanosa y todas sus partes son espinosas, excepto las flores y el fruto. Las flores son de color blanco amarillento, se agrupan en racimos que contiene hasta diez flores. El fruto es de color naranja brillante es una baya globular y mide entre 4 y 6.5 cm de diámetro, cubierto de vellos cortos quebradizos que caen fácilmente al frotarlos. Internamente es una pulpa de color verde claro, pegajosa, ácida y jugosa, contiene muchas semillas, generalmente maduran de uno a seis frutos por racimo.(Santacruz, 2004)

2.2.2.3 Componentes Nutricionales

Tabla 8: Tabla componentes nutricionales de la naranjilla (cantidades dadas para 100 g de pulpa fresca)

Componente	Unidad	Pulpa Pura	Pulpa + semilla
Valor energético	cal	28	45
Proteína	g	0.7	1.2
Grasa	g	0.1	0.2
Carbohidratos	g	6.8	10.9
Fibra	g	0.4	4
Ceniza	g	0.6	0.7
Vit. A.	mg	50	70
Tiamina	mg	0.6	0.7
Riboflavina	mg	0.4	0.4
Niacina	mg	1.5	1.5
Ácido ascórbico	mg	65	48
Calcio	mg	8	11
Fósforo	mg	14	41
Hierro	mg	0.4	0.6

Fuente: SICA, 2001

2.2.2.4 Aplicaciones

La naranjilla en nuestro país es consumida en gran cantidad, se le puede consumir

como fruta fresca, también a partir de este fruto se realizan varios productos como: jugos, helados, mermeladas, conservas, extractos aromáticos y en salsas como ingrediente en varios platos de la cocina ecuatoriana.(Escobar, 2011)

2.3 Familia Ericáceae

La familia Ericaceae, esta comprendida de 100 géneros y de unas 400 especies, que se desarrollan generalmente en zonas templadas y frías. En Ecuador existe aproximadamente unos 21 géneros y unas 240 especies, de los cuales 17 géneros se encuentran en la zona andina (Ulloa y col., 1995). Las ericáceas presentes en el neotrópico se encuentran en el noroeste de Sur América (Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela), especialmente en bosques montañosos húmedos y fríos ubicados entre los 2500 y 3400 metros de altura sobre el nivel del mar.(Luteyn et al.,1996)

Las especies de la familia Ericaceae han sido empleadas en diferentes partes del mundo con fines alimenticios, dentro de las cuales el genero más representativo es el *Vaccinium*, mismo que se le ha vinculado fines beneficiosos para la salud debido a su alto contenido de antioxidantes.(Corzo, 2012)

2.3.1 *Vaccinium floribundum* Kunth

Figura 7: *Vaccinium floribundum* Kunth (mortiño)



Fuente: Google imágenes

2.3.2.1. Descripción taxonómica

Tabla 9: Clasificación taxonómica de *Vaccinium floribundum* Kunth.

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Ericales
Familia:	Ericaceae
Género:	<i>Vaccinium</i>
Especie:	<i>Floribundum</i>
Nombre común:	Mortiño

Fuente: Pérez y col., 2007

2.3.1.2. Características

La especie *Vaccinium floribundum* Kunth, conocida como mortiño en Ecuador se desarrolla en climas templados y fríos entre temperaturas de 8 a 16°C. (Lagos-Burbano *et al.*, 2010).

Es un arbusto erguido de 30 cm, con hojas pequeñas con bordes aserrados generalmente de color verde. La flor es de color rosada en forma de campana de 5-8 mm de largo. Con un fruto pequeño azul-morado de 6 mm de diámetro (Van den Eynden *et al.*, 1999). Crecen en suelos ácidos, arenosos, con turba o con materia orgánica, producen frutas comestibles insípidas, de sabor dulce o agrio dependiendo del grado de madurez. (Trujillo, 2008)

En el Ecuador se encuentran identificadas tres especies de mortiño, la especie más abundante es *Vaccinium floribundum* Kunt, (Pérez y col., 2007) misma que contiene una gran cantidad de vitaminas, minerales y antioxidantes según se detalla en la tabla 10.

2.3.1.3. Componentes Nutricionales

Tabla 10: Tabla componentes nutricionales del mortiño (cantidades dadas para 100 g de pulpa fresca)

COMPOSICIÓN POR 100G FRUTA	
Calorías (Kcal.)	30.1
Hidratos de Carbono (g)	6.9
Fibra (g)	1.8
Potasio (mg)	88
Magnesio (mg)	0.5
Pro vitamina A (mcg)	12
Vitamina C (mg)	17
Vitamina E (mg)	5
Agua (g)	87.4
Proteínas (g)	0.3

Fuente: Benenaula, 2007

2.3.1.4. Aplicaciones

Esta fruta se puede consumir de varias maneras generalmente se la consume como fruta fresca en ensaladas de frutas, vegetales, mezclados con cereales y yogurt. Por su sabor agradable y fuerte se usa en la preparación de salsas, como acompañamiento en platos de carnes (tipo gourmet), repostería, salsas de pancakes, waffles, en conservas como mermeladas, jaleas, etc.

En Ecuador se consumen en gran cantidad en la época del Día de los Difuntos, en el cual se prepara una bebida tradicional, llamada colada morada que se lo consume solo en el mes de noviembre, esta colada es muy conocida en Ecuador y en otros países de Latinoamérica.(Benenaula, 2009)

2.3.2 *Macleania rupestris*

Figura 8: *Macleania rupestris* (joyapa)



Fuente: Google imágenes

2.3.2.1. Descripción taxonómica

Tabla 11: Clasificación taxonómica de *Macleania rupestris*.

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Ericales
Familia:	Ericaceae
Género:	<i>Macleania</i>
Especie:	<i>Rupestris</i>
Nombre común:	Joyapa

Fuente: Corzo, 2012

2.3.2.2. Características

La especie *Macleania rupestris*, conocida en Ecuador como joyapa, crece en bosques andinos y en el páramo entre los 2.000 a 3.500 metros de altura sobre el nivel del mar. (Corzo, 2012)

Es un arbusto bien ramificado de 2.30 a 2.50 metros de altura, tiene una copa amplia y ramifica con hojas pequeñas de color verde, en algunas ocasiones esta especie crece contiguo a árboles altos y asciende por sus ramas remedando una especie bejucosa. La flor es de color rojo llamativo con frutos pequeños de color morado oscuro a manera de uvas convencionales. Crece sobre sustratos o terrenos pedregosos, suelos superficiales y pobres, a veces se le observa creciendo sobre taludes (barrancos) casi verticales de carreteras. (Corzo, 2012)

Dentro de sus características nutricionales tenemos que es fuente de vitaminas, minerales y aminoácidos como: niacina y riboflavina. Por otro lado tanto el fruto como las hojas contienen taninos y ácidos benzoicos. (Corzo, 2012)

2.3.2.3. Aplicaciones

El fruto de la *Macleania rupestris*, es utilizado en la elaboración de varios productos como: jugos, mermeladas, conservas y caramelos. También se lo puede consumir como fruto fresco. (Lagos-Burbano *et al.*, 2010)

CAPITULO 3

METODOLOGÍA

En el capítulo que se detalla a continuación se presenta la metodología utilizada en el desarrollo del presente trabajo de investigación. Los ensayos realizados fueron: recolección y selección de las frutas en estudio, elaboración de los extractos en alcohol, determinación de la actividad antioxidante por el método DDPH, determinación de la actividad antirradicalaria por el método del radical superóxido, cuantificación de contenido de vitamina C por método polarográfico. Además se incluye la formulación, elaboración de la bebida aplicando diseño experimental y finalmente se evaluara su aceptación mediante análisis sensorial.

3.1 Recolección y selección de las frutas en estudio

En el presente estudio se utilizó seis frutas autóctonas del Ecuador, mismas que se detallan en la tabla 12, también se detalla los lugares donde se adquirió el material vegetal tabla 13.

Los frutos recolectados fueron lavados y pesados, posteriormente se obtuvo la pulpa de los mismos para almacenarla en congelación hasta su utilización.

Tabla 12: Familia, nombre científico y nombre común de las frutas en estudio.

Familia	Nombre	Nombre común
Anacardiaceae	<i>Spondias purpúrea</i> L	Ciruelo
	<i>Mangifera indica</i> L	Mango
Solanaceae	<i>Solanum muricatum</i> Ait	Pepino dulce
	<i>Solanum quitoense</i> Lam	Naranjilla
Ericaceae	<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth	Mortifño
	<i>Macleania rupestris</i>	Joyapa

Fuente: Autor

Figura 9: Frutos utilizados



Fuente: Autor

Tabla 13: Lugares y fecha de recolección

Nombre	Lugar de recolección	Mes de recolección
<i>Ciruelo (Spondias purpúrea L)</i>	Mercado Central - Guayaquil	Noviembre
<i>Mango (Mangifera indica L)</i>	Mercado 10 de agosto - Cuenca	Noviembre
<i>Pepino dulce (Solanum muricatum Ait)</i>	Mercado 10 de agosto - Cuenca	Septiembre
<i>Naranjilla (Solanum quitoense Lam)</i>	Mercado 10 de agosto - Cuenca	Septiembre
<i>Mortiño (Vaccinium floribundum Kunth)</i>	Mercado Mayorista - Ambato	Noviembre
<i>Joyapa (Macleanea rupestris)</i>	Mercado de Jima	Octubre

Fuente: Autor

3.2 Elaboración de los extractos en alcohol

Previamente obtenidas las pulpas de las seis frutas en estudio, se procedió a descongelar, posteriormente se realizó la elaboración de los extractos en alcohol, una vez obtenidos los diferentes extractos estos se deberán almacenar a 0 °C.

3.2.1 Materiales

- Balanza analítica
- Probeta de 100 ml
- Licuadora

- Tubos Falcón de 15 ml y 50 ml
- Pipetas automáticas de 5 ml y 1000 μ l
- Puntas desechables
- Centrifuga 1 – 14000 rpm
- Cuchillos

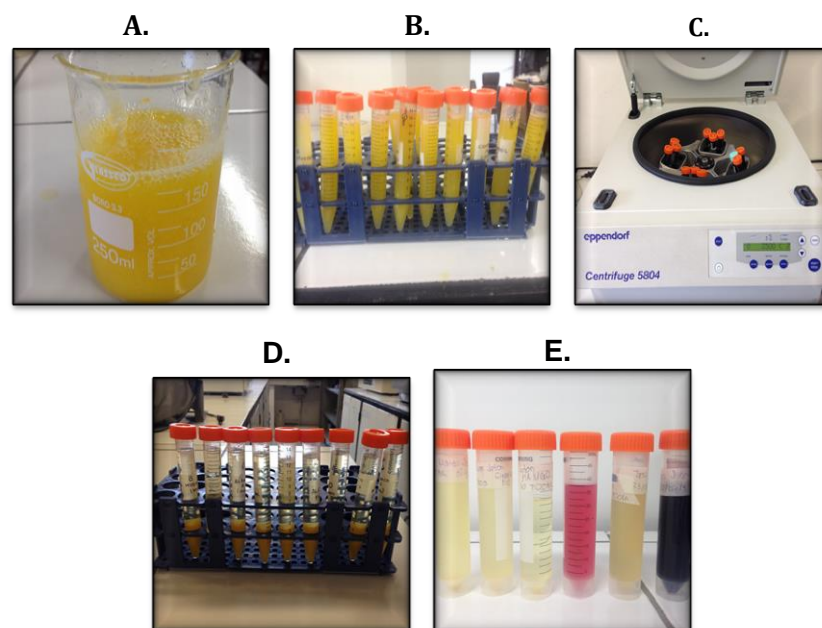
3.2.2 Reactivos

- Etanol al 99%
- Pulpa de fruta

3.2.3 Procedimiento

1. Extraer la pulpa de las frutas.
2. Pesar 100 gramos de pulpa.
3. Licuar la pulpa con 100 ml de etanol
4. Recoger todo el licuado y colocar en tubos Falcón de 15 ml
5. Centrifugar las muestras a 3500 rpm durante 7 minutos
6. Recoger el sobrenadante y colocar en tubos Falcón de 50 ml.
7. Almacenar las muestra a 0 ° C, hasta su uso.

Figura 10: Proceso de obtención de los extractos en alcohol



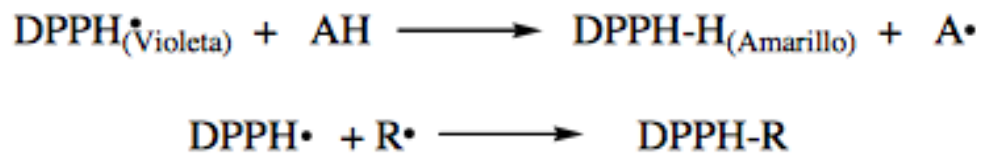
Fuente: Autor

- A. Mezcla pulpa de fruta con etanol 1:1.
- B. Tubos Falcón con la solución pulpa de fruta: etanol.
- C. Tubos con la solución previos al proceso de centrifugación.
- D. Solución pulpa de fruta: etanol centrifugada.
- E. Extractos alcohólicos de las frutas en estudio.

3.3 Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH

El fundamento de esta técnica consiste en la medición a 517 nm de la variación de absorbancia debida a la reducción del radical estable 1,1-difenil-2-picril hidrazilo (DPPH•). El radical DPPH es un radical libre estable a causa de la deslocalización de un electrón desapareado en la molécula y por esta razón dicha molécula no se dimeriza, esta deslocalización da a la molécula un color violeta intenso. La absorbancia característica de este radical que posee un color violeta intenso, disminuye con la presencia de un antioxidante u otro radical (Molyneux, 2004).

Figura 11: Reacciones con DDPH



Fuente: Pelaez, 2009

Es posible, por tanto, cuantificar la capacidad captadora de radicales libres que poseen determinados compuestos mediante la determinación del grado de decoloración que producen a una solución metanólica de DPPH. La molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) se caracteriza porque está no dimeriza, como sería el caso de la mayoría de los radicales libres. La deslocalización da lugar al color violeta oscuro, caracterizado por poseer una banda de absorción en solución alcohólica aproximada a 520 nm. Cuando una solución de DPPH se mezcla con una sustancia que pueda donar un átomo de hidrógeno, da lugar a la forma reducida acompañado de la pérdida del color violeta y la aparición de un color amarillo pálido debido a la presencia del grupo picrilo.(Ars Pharm 2005)

El IC_{50} se calculo como una reducción del 50% en la absorbancia ocasionada por la muestra en comparación con el blanco es decir la capacidad que tiene la muestra para inhibir el 50% de los radicales libres de la solución DPPH.

3.3.1 Materiales

- Balanza analítica
- Espátulas
- Balones a aforo de: 500ml, 100ml, 25ml
- Vasos de precipitación
- Pipetas volumétricas, serológicas
- Pipetas automáticas de: 5ml, 1000 μ l, 100 μ l
- Puntas desechables
- Tubos Falcón
- Gradillas
- Espectrofotómetro

3.3.2 Reactivos

- DDPH (2,2, - difenil picril hidracil)
- Etanol al 99 %
- Extracto alcohólico de las frutas en estudio
- Agua destilada

3.3.3 Preparación de las soluciones

3.3.3.1 Elaboración de la diferentes diluciones

Las diferentes diluciones (250,125,75,50 y 25 μ /ml) se realizaron a partir de una solución madre de 500 ppm. Las cuales se formularon mediante la siguiente ecuación:

Ecuación 1: Fórmula para la elaboración de las diluciones

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

V_1 = volumen que se debe obtener del extracto

C_1 = Concentración del extracto (500 μ g/mL)

V_2 = volumen de aforo (2mL)

C_2 = Concentración requerida (500,250,125,75,50 y 25 μ g/mL)

Las diferentes diluciones fueron aforadas en balones de 25ml, las diluciones se prepararon el mismo día que se iba a utilizar.

3.3.3.2 Preparación de la solución DPPH.

La solución DPPH se preparó a una concentración de 20 mg/L.

1. Pesar 0,002 gr de DPPH.
2. Mezclar y aforar con agua destilada en un vaso de 100ml.
3. Almacenar en un balón ámbar o cubrir el balón de aforo con papel aluminio.

3.3.4 Procedimiento

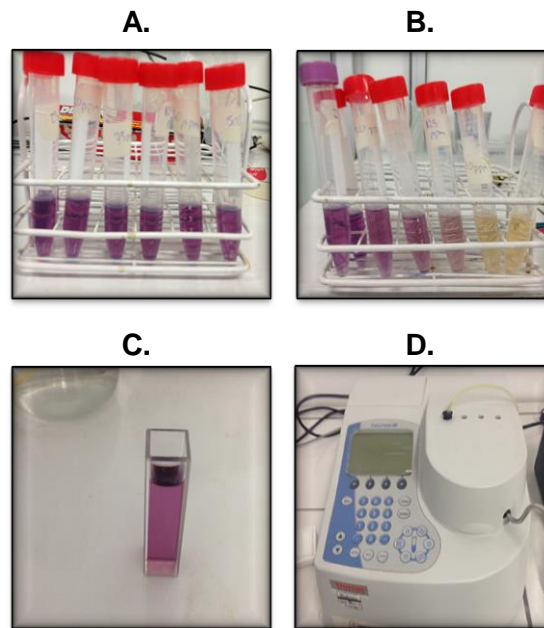
1. De los extractos previamente obtenidos, realizar diluciones de diferentes concentraciones: 500, 250, 125, 75, 50 y 25 μ l/ml.
2. Formular una solución etanólica de DPPH con una concentración de 20 ppm (20 mg/L), la cual no se debe exponer a la luz por lo que se debe almacenar en un balón ámbar.
3. En los tubos Falcón, colocar 1 ml de cada dilución y 3 ml de la dilución de DPPH. Rotular y agitar.
4. Almacenar los tubos en oscuridad durante un lapso de 20 minutos, mientras ocurre la reacción de decoloración.
5. Leer en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm.
6. Realizar las lecturas por triplicado.

Tabla 14: Esquema de ensayo método DDPH

Soluciones	Blanco	25ppm	50ppm	75ppm	125ppm	250ppm	500ppm
1. Agua destilada	1ml	-	-	-	-	-	-
2. Muestra diluida	-	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml
3. Solución DDPH	3 ml	3ml	3ml	3ml	3ml	3ml	3ml
Volumen total	4ml	4ml	4ml	4ml	4ml	4ml	4ml

Fuente: Autor

Figura 12: Proceso método DDPH



Fuente: Autor

- A. Soluciones previa a la reacción.
- B. Soluciones después de la reacción (20 minutos).
- C. Solución en la cubeta de cuarzo
- D. Lectura absorbancia a 517 nm.

3.3.5 Cálculos

El porcentaje de decoloración se calculara utilizando la siguiente ecuación:

Ecuación 2: Fórmula para calcular el % de decoloración

$$\% \text{ Decoloracion DDPH} = \left(1 - \frac{A_m - A_{bm}}{A_{DPPH}}\right) \times 100$$

Fuente: Martínez y col. 2005

A_m: absorbancia de la mezcla de reacción (DPPH + muestra)

A_{bm}: absorbancia del blanco de muestra (muestra + agua)

A_{DPPH}: absorbancia de la solución de DPPH.

Para calcular el IC₅₀ que indica la capacidad que tiene la muestra para inhibir el 50% de los radicales libres. Se empleó la siguiente ecuación:

Ecuación 3: Fórmula para calcular el IC50

$$IC\ 50 = \frac{50 \times C_m}{\% \text{ Decoloracion}}$$

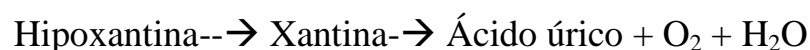
Fuente: Bafna y col, 2005

3.4 Determinación de la actividad antirradicalaria por el método del radical superóxido.

El radical superóxido (O₂) es el primer producto de la reducción univalente del oxígeno, su importancia biológica estriba en su capacidad para generar otras especies oxigenadas más reactiva, por ejemplo el radical hidroxilo, además de participar en la reacción bactericida de las células fagocitarias.

La xantina oxidasa es una enzima capaz de generar radicales O₂ *in vitro*, por la oxidación de productos reducidos, provenientes del catabolismo del ATP intracelular, siendo este el mecanismo al que se atribuye el daño celular, tras la repercusión de tejidos isquémicos. Esta enzima cataliza las siguientes reacciones de oxidación:

Figura 13: Reacciones Hipoxantina

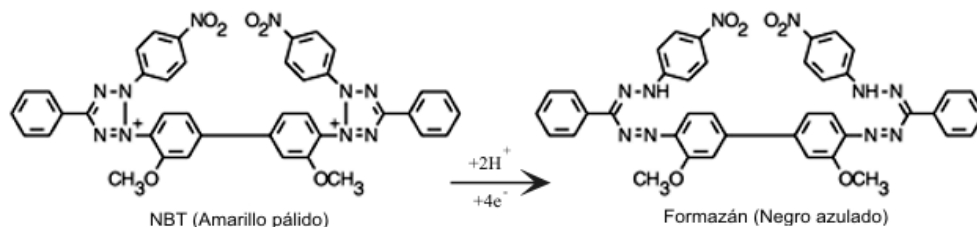


Fuente: Parejo *et al.*, 2003

El O_2 generado en esta secuencia de reacciones, debido a su carácter reductor, puede reducir compuestos como el ferricitocromo C o nitrobluetetrazolium (NTB). El NTB cuando es reducido por el O_2 , da lugar a la formación de un cromóforo que presenta su máximo de absorción a 560nm. Aquellos principios activos captadores del radical O_2 disminuyen la velocidad de formación de dicho cromóforo (Parejo *et al.*, 2003).

El estudio se basó en la capacidad de la muestra para inhibir la formación de una molécula azul mediante el barrido de los radicales superóxido generados en el sistema riboflavina-luz-azul de nitrotetrazolio (NBT).

Figura 14: Reacciones método radical superóxido (NTB)



Fuente: Parejo *et al.*, 2003

3.4.1 Materiales:

- Balanza analítica
- Potenciómetro
- Vasos de precipitación
- Probetas
- Balones de aforo
- Pipetas volumétricas
- Pipetas automáticas 1000 μ l, 100 μ l
- Puntas desechables
- Tubos Falcón
- Gradillas
- Espectrofotómetro
- Papel aluminio

3.4.2 Reactivos:

- K_2HPO_4
- KH_2PO_4
- Etanol absoluto
- Hipoxantina
- Xantina oxidasa de leche de vaca
- Nitrobluetetrazolium (NTB)
- Agua destilada
- Extracto de las frutas en estudio

3.4.3 Elaboración de las soluciones

3.4.3.1 Buffer Fosfato de Potasio

A continuación se detalla el procedimiento para la elaboración de la solución Buffer Fosfato de Potasio con un pH 7,5.

1. Preparar una solución 50 mM KH_2PO_4 , disolviendo 0,3g KH_2PO_4 en un balón de 50ml y aforar con agua destilada.
2. Preparar una solución 50MmM K_2HPO_4 , disolviendo 1,77g de K_2HPO_4 en un balón de 250ml y aforar con agua destilada.
3. Mezclar 200ml de la solución de K_2HPO_4 (pH aproximado 9) con 32ml de la solución de KH_2PO_4 (pH aproximado 4).
4. Ajustar el pH con la solución de KH_2PO_4 , agregando gota a gota hasta alcanzar un pH 7,5.
5. Adicionar aproximadamente 0,1g de EDTA.
6. Almacenar en refrigeración y proteger con papel aluminio.

3.4.3.2 Solución de Hipoxantina 0,2 mM

Para la elaboración de la solución de Hipoxantina 0,2 mM, pesar 2,7 mg de hipoxantina y aforar con Buffer fosfato de potasio en un balón de 100ml.

3.4.3.3 Solución de Nitrbluetetrazolium

Pesar 21mg de NBT, disolver con 1ml de DMSO (dimetil sulfoxido) y agregar 1,5 ml de Buffer fosfato de potasio. Esta solución tiene una concentración de 10mM. Proteger con papel aluminio y almacenar en refrigeración hasta su uso.

Para obtener la solución de trabajo de 1mM, tomar 1ml de la solución de 10mM y agregar 9ml de Buffer fosfato de potasio. Preparar la solución el momento que se vaya a utilizar y proteger de la luz con papel aluminio.

3.4.3.4 Solución de Xantina Oxidasa

La solución enzimática deberá ser utilizada a 1,2 U/ml de xantina oxidasa , la cual se debe preparar en Buffer fosfato de potasio. Para los cálculos se debe considerar que la enzima viene a una concentración de 38,5 U/ml.

Para obtener la solución tomar 0,5 ml de la solución de xantina oxidasa y se adicionar 16,06 ml de la solución Buffer fosfato de potasio.

3.4.4 Procedimiento

1. Encerar el espectrofotómetro con buffer fosfato.
2. En los tubos Falcón adicionar las sustancias en el orden que se estipula en el siguiente cuadro.

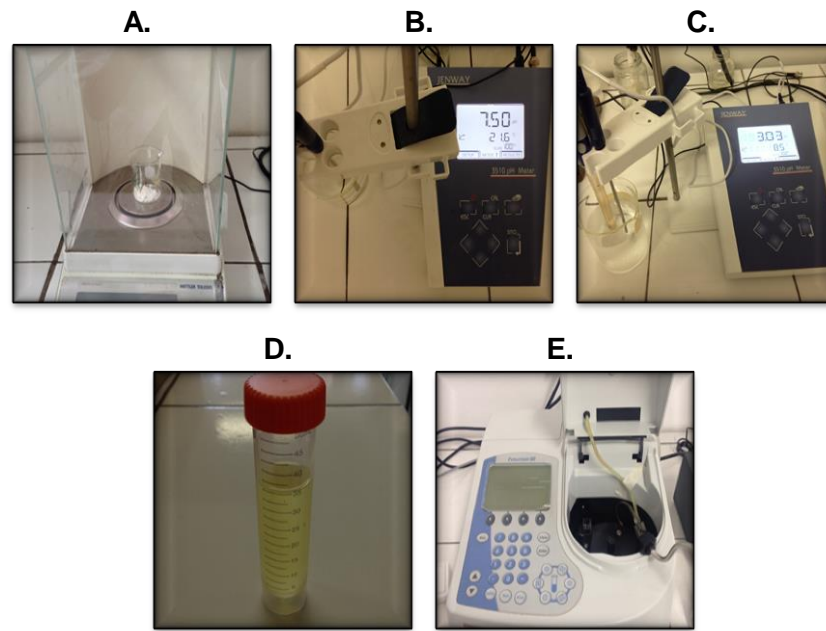
Tabla 15: Esquema de ensayo método radical superóxido

Soluciones (ml)	Control	Blanco control	Muestra	Blanco muestra
1. Buffer fosfato	0,76	0,76	0,76	0,76
2. Solución hipoxantina 0,2mM	0,126	0,126	0,126	0,126
3. Etanol	0,126	0,25	-	0,126
4. Muestra	-	-	0,126	0,126
5. Solución NTB 1mM	0,126	0,126	0,126	0,126
6. Solución enzimática	0,126	-	0,126	-
Volumen final	1,264	1,262	1,264	1,264

Fuente: Autor

- La lectura se debe realizar a una longitud de onda de 560 nm, durante aproximadamente 10 minutos en intervalos de 5 segundos.
- Se debe leer primero la absorbancia de los blancos.
- Mientras se realiza la lectura los otros tubos se deben mantener protegidos de la oscuridad, debido a que el NBT se oxida rápidamente en presencia de la luz.
- Realizar las lecturas por triplicado.

Figura 15: Proceso método radical superóxido



Fuente: Autor

- A. Pesado de los reactivos.
- B. Elaboración del Buffer Fosfato de Potasio.
- C. Elaboración de la solución de KH_2PO_4 .
- D. Solución de Nitrobluetetrazolium (NTB).
- E. Lectura de las soluciones durante aproximadamente 10 minutos.

3.4.5 Cálculos

Para los cálculos del porcentaje de atrapamiento del anión superóxido, que se expresa mediante la inhibición del máximo de la muestra en comparación con el control, se utilizó la siguiente ecuación:

Ecuación 4: Fórmula para calcular el % de atrapamiento del anión superóxido.

$$\% \text{ Atrapamiento} = \frac{E - S}{E} \times 100$$

$$E = A - B$$

$$S = C - (B+D)$$

Fuente: Autor

A= densidad óptica del control

B= densidad óptica del blanco del control

C= densidad óptica de la muestra

D= densidad óptica del blanco de la muestra

3.5 Cuantificación del contenido de vitamina C por método polarográfico.

La voltametría consta de un grupo técnicas electroquímicas que se basan en la respuesta corriente-potencial de un electrodo polarizable en la solución que se analiza. En estas técnicas, se estudian los cambios de corriente, como una función del potencial aplicado a través de la celda electrolítica. El proceso involucra la electrolisis de una o más especies electro activas, el cual comprende: reacción de la especie electroactiva en el electrodo y mecanismo de transferencia de masa. Estos últimos pueden ser por migración (movimiento de especies por diferencia de carga), convección (movimiento de la materia por cambios físicos) y difusión (movimiento de las especies por gradiente de concentración). En la mayoría de los casos, la electrólisis se efectúa bajo condiciones tales, que la difusión sea el proceso fundamental en el transporte de la especie electroactiva; la migración y la convección se minimizan por la adición de un exceso de electrolito soporte y evitando el movimiento de agitación y gradientes de temperatura.

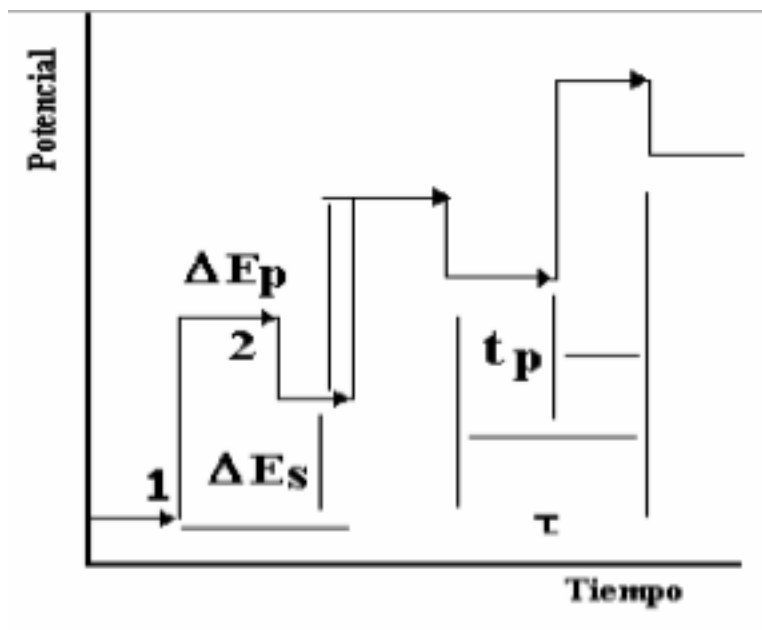
La Polarografía no es más que una voltametría de barrido lineal; que se diferencia de las técnicas voltamétricas porque en este caso se emplea un electrodo de gota de mercurio. Dando una curva intensidad-potencial cuya altura, después de medida y comparada con una recta de calibrado, por ser proporcional a la concentración de la sustancia que la produce, es empleada para conocer su concentración en solución. Esta técnica ha sido utilizada en la determinación cuantitativa de una amplia variedad de especies orgánicas e inorgánicas de interés bioquímico.(Ortiz y col, 2006)

Voltametría De Pulso Diferencial (VPD)

En esta técnica, la forma de la onda en la señal de excitación, consiste en una serie de pulsos a manera de escalera, donde el potencial de base aumenta gradualmente en

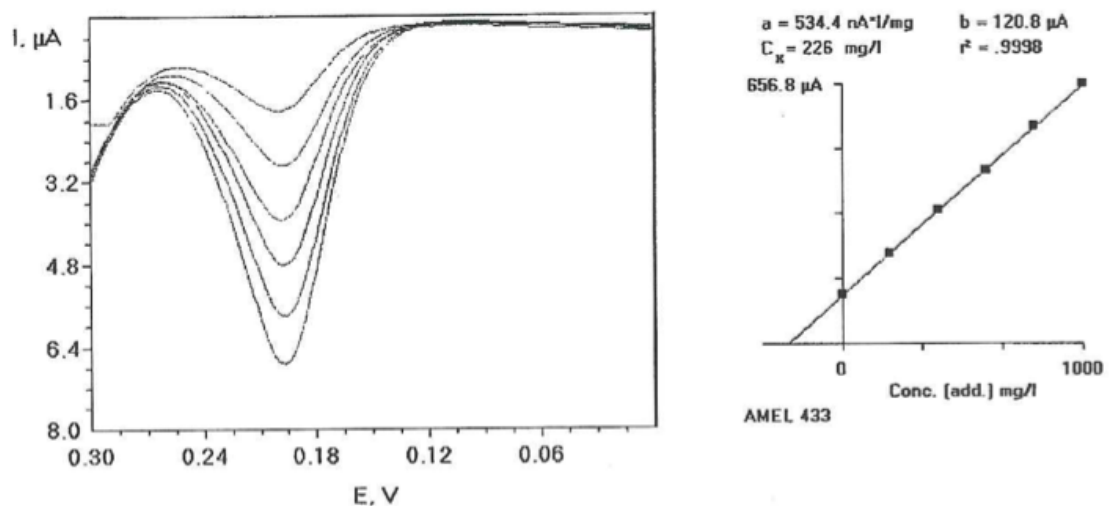
pequeños intervalos entre 10 y 100 mV (ancho de pulso= 'Es). La amplitud de pulso 'Ep, se mantiene constante con respecto al potencial de base Figura 16.

Figura 16: Señal de excitación aplicada en VPD



Fuente: Protti, 2001, pp12

Figura 17: Comportamiento típico de la curva en VPD, en determinación de Ácido ascórbico



Fuente: Protti, 2001, pp12

La lectura se efectuó mediante software Amel 433 Trace Analyser, bajo las siguientes condiciones instrumentales: DPV automático, modo DME, tamaño de gota: 60, velocidad de scan: 20 mV/seg.

3.5.1 Materiales

- Polarógrafo
- Balanza analítica
- Potenciómetro
- Vasos de precipitación
- Varilla
- Probetas
- Balones de aforo 1000, 100
- Pipetas volumétricas
- Pipetas automáticas de 1000 100
- Puntas desechables

3.5.2 Reactivos

- Ácido ascórbico
- Nitrato de sodio (NaNO_3)
- Ácido acético (CH_3COOH)
- Agua destilada
- Extractos de las frutas en estudio

3.5.3 Elaboración de las soluciones

3.5.3.1 Elaboración de la solución tampón (pH3)

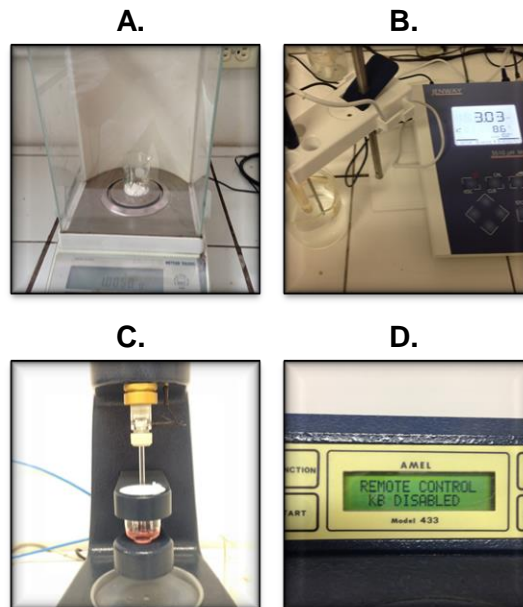
Para la elaboración de la solución tampón a pH3, realizar los siguientes pasos.

1. Pesar 0,85g de NaNO_3 y aforamos con agua destilada en un balón de 800ml.
2. Adicionar 2,86 ml de CH_3COOH glacial.
3. Ajustar el pH a 3, adicionando gota a gota CH_3COOH glacial.

3.5.4 Procedimiento

1. Colocar 10 ml de solución tampón (pH 3).
2. Adicionar 1 ml de extracto de fruta.
3. Realizar la lectura en el polarógrafo.
4. A partir de la solución estándar de ácido ascórbico (1000 ppm), formar una solución de 100 ppm y aforar a 100 ml.
5. Una vez realizada la primera lectura adicionar 1 ml de la solución de ácido ascórbico 100 ppm y volver a realizar la lectura. Repetir este paso hasta obtener cuatro lecturas.

Figura 18: Proceso cuantificación vitamina C



Fuente: Autor

- A. Pesado de los reactivos.
- B. Elaboración de Buffer pH 3.
- C. Cuantificación vitamina C en polarógrafo.
- D. Calibración polarógrafo.

3.6 Desarrollo de la bebida a base de fruta con potencial antioxidante.

Para el desarrollo de la bebida con potencial antioxidante, se escogerá las tres frutas con mayor actividad antioxidante, misma que se determinara en el laboratorio mediante ensayos “in vitro”.

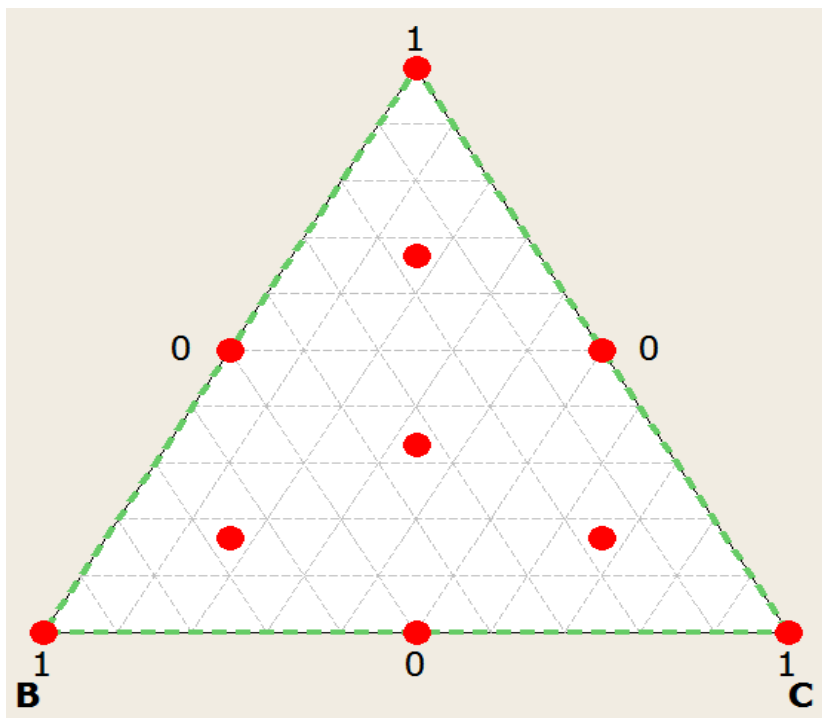
3.6.1 Diseño experimental

El objetivo del diseño de experimentos con mezclas es cuantificar la influencia que tienen los diferentes componentes sobre la respuesta, tanto en forma individual como en su acción conjunta con otros componentes. Se trata de modelar esta respuesta para predecirla en cualquier formulación posible, y utilizar los modelos con el propósito de encontrar la composición de la mezcla que proporcione mejores resultados (optimizar).

3.6.1.1 Diseño experimental simplex reticular aumentado

Para el efecto se aplicará un diseño de mezclas Simplex Reticular Aumentado, que incluye básicamente puntos en la frontera, pero si el experimentador desea hacer predicciones en el interior es recomendable agregar corridas que estén en el interior. En particular se recomienda agregar el centroide global y las mezclas localizadas entre el centroide y los vértices, desarrollándose 10 experimentos. (Gutiérrez y de la Vara, 2008)

Figura 19: Diseño de mezclas simplex reticular aumentado.



Fuente: Autor

Tabla 16: Esquema diseño de mezclas simplex reticular aumentado

Nro. Experimento	Fruta 1	Fruta 2	Fruta 3
1	100%	0	0
2	0	100%	0
3	0	0	100%
4	50%	50%	0
5	0	50%	50%
6	50%	0	50%
7	33%	33%	33%
8	16.5%	16.5%	66%
9	16.5%	66%	16.5%
10	66%	16.5%	16.5%

Fuente: Gutiérrez y de la Vara, 2008

Una vez obtenidos los resultados experimentales del diseño de mezclas (tabla 16), es necesario ajustar un modelo estadístico para investigar el efecto de los componentes sobre la respuesta. Una primera aproximación sería ajustar un modelo de primer orden.

Ecuación 5: Fórmula modelo matemático lineal

$$E(y) = \sum_{i=1}^q B_i X_i$$

Fuente: Gutiérrez y de la Vara, 2008.

Donde $E(y)$ es el valor esperado de la variable respuesta y .

Para el cálculo del coeficiente B_i se aplicó la ecuación matricial ecuación 6, siguiendo el método descrito Gutiérrez.(Gutiérrez y de la Vara, 2008 pagina 362)

Ecuación 6: Ecuación matricial

$$Y = \begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_3 \end{bmatrix}, \quad X = \begin{matrix} X_{11} & X_{12} & \cdots & x_{1k} \\ X_{21} & X_{22} & \cdots & x_{2k} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ X_{nl} & X_{n2} & \cdots & x_{nk} \end{matrix}, \quad B = \begin{bmatrix} b_1 \\ b_2 \\ \vdots \\ b_3 \end{bmatrix}$$

Fuente: Gutiérrez y de la Vara, 2008.

Y= vector de observaciones

X= es una matriz n x p de niveles de la variable regresora

B= es el vector de los coeficientes que definen el modelo .

La ecuación de regresión en forma matricial es la siguiente $Y = XB$, las incógnitas son los valor del valor B y se calcula mediante la ecuación 7

Ecuación 7: Cálculo de los coeficientes del modelo

$$B = (X'X)^{-1}X'Y$$

Fuente: Gutiérrez y de la Vara, 2008 p 363.

Una vez que se cuenta con los datos de un diseño es posible ajustar un modelo sea primer o mayor grado. Para analizar los resultados del diseño de mezcla la primera tarea es ajustar y seleccionar el modelo adecuado. Por lo tanto es preciso decidir si este modelo es adecuado o si es suficiente el modelo cuadrático o incluso el lineal. Los cálculos se realizaron con el programa estadístico MINITAB (Minitab 16, 2013)

El modelo de orden cero consiste solo en una constante (el promedio), el lineal contiene términos de primer orden para cada x_i . El cuadrático incluye las interacciones $x_i x_j$ y el cubico especial agrega términos $x_1 x_2 x_3$. El valor p prueba si el modelo es significativo o a porta elementos en la explicación de la respuesta al compararlo con el modelo anterior de más bajo orden.

Ecuación 8: Fórmula modelo matemático cuadrático

$$E(y) = \sum_{i=1}^q B_i X_i + \sum_{i<j} \sum_{j=2}^q B_{ij} X_i X_j$$

Fuente: Gutiérrez y de la Vara, 2008.

Donde el coeficiente B_i representa la respuesta esperada en la mezcla pura $x_i=1$, y al mismo tiempo es la altura de la superficie en el vértice $x_i=1$.

Con el criterio del valor p normalmente se elige el modelo más complicado con un valor p menor que 0,05. Con este criterio se selecciona el grado del modelo. (Gutiérrez y de la Vara, 2008, pg. 482-297)

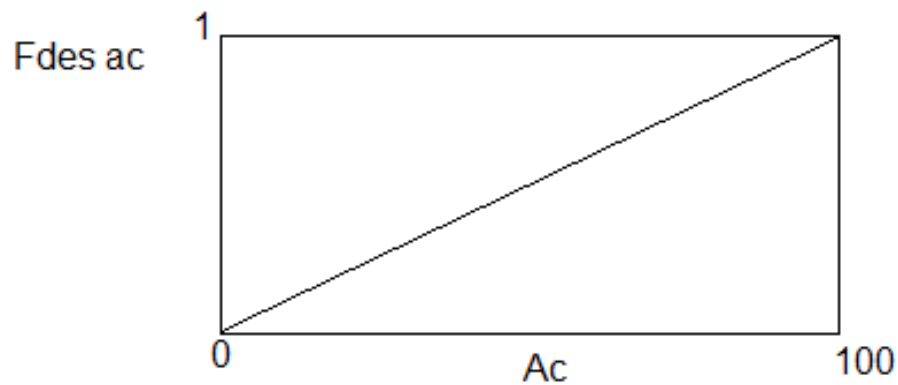
Las variables respuesta han sido: la cuantificación de la actividad antioxidante “in vitro” y la aceptación que se cuantificó con análisis sensorial mediante fichas de cata (Anexos A-1) ante catadores no entrenados. Por último se calculó función deseabilidad mediante análisis estadístico.

3.6.1.2 Método de la función deseabilidad

La función deseabilidad consiste en definir una función en el espacio de factores que estima la Deseabilidad global (DG) del producto en cada punto; de esta forma, convierte el problema de optimización multivariado en un problema de optimización univariado. Para definir la UG se requiere que todas las Y estén en la misma escala, y esto se logra transformando cada respuesta predicha $Y_i(x)$ en un valor de deseabilidad individual $d_i(x)$ que cae en el intervalo $[0,1]$.

En el presente trabajo se ha utilizado para la respuesta aceptación una función lineal creciente, que premia las aceptaciones mayores y penaliza las aceptaciones más bajas. Como se indica en la figura 18.

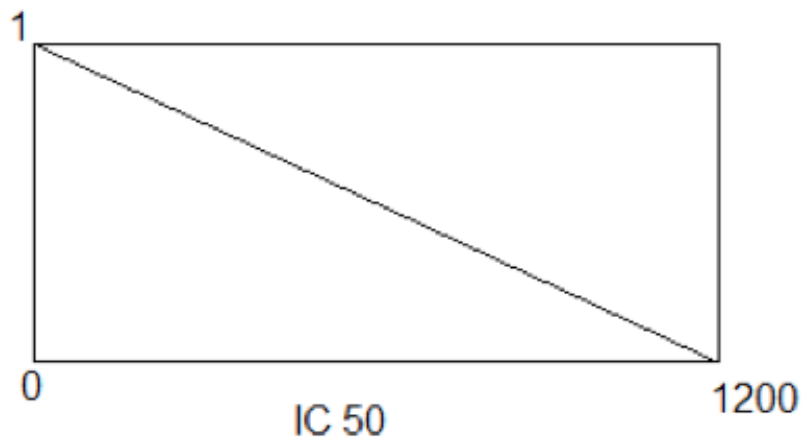
Figura 20: Grafica función deseabilidad (aceptación)



Fuente: Autor

Para la actividad antioxidante como el IC50 es inversamente proporcional a la actividad se ha utilizado una función lineal decreciente que premia los IC 50 bajos y penaliza los IC%0 altos como se ve en la figura 19.

Figura 21: Grafica función deseabilidad (IC50)



Fuente: Autor

De esta manera la función de deseabilidad global se obtiene como promedio aritmético de los valores de las funciones individuales.

Ecuación 9: Función utilidad y punto óptimo simultaneo

$$FD = \sqrt{FD_{accept} \times FD_{IC50}}$$

Fuente: Gutiérrez y de la Vara, 2008 pg. 443

3.6.2 Fórmula base bebida

La formulación de la bebida con potencial antioxidante se la realizara tomando en cuenta los parámetros de las normas: INEN 2337:2008 (Anexo A-2) para jugos a base de frutas.

Tabla 17: Fórmula para la elaboración de la bebida con potencial antioxidante.

Ingredientes	%	Peso g
Pulpa	21,95	329,25
Agua	65,91	988,65
Azúcar	11,9	178,5
CMC	0,1	1,5
Ácido cítrico	0,1	1,5
Benzoato de sodio	0,04	0,6
Total	100	1500

Fuente: Autor

3.6.3 Descripción del proceso de elaboración de la bebida con potencial antioxidante.

3.6.3.1 Selección

Las frutas fueron seleccionadas observando que cumplan con las características deseadas, posterior a esto las frutas fueron lavadas y peladas, para obtener su pulpa, misma que fue almacenada en congelación hasta su posterior uso.

3.6.3.2 Pesado y Dosificación

En esta etapa del proceso se realizó los diferentes cálculos para obtener la fórmula deseada, en cuanto a sabor, grados °Brix y acidez. Después de esto se procedió a pesar los diferentes ingredientes anunciados en la Tabla 17 .

3.6.3.3 Mezclado

Una vez pesado todos los ingredientes se procedió al mezclado, en el cual primero se mezcló el agua con la pulpa de fruta, posteriormente se mezclaron los demás ingredientes.

3.6.3.4 Medición de °Brix y Acidez

El °Brix se determinó por medio de un refractómetro digital de marca Boeco según manual de operación (Boeco, Operation Manuel), en donde se obtuvo 12 °Brix antes de la pasteurización. Una vez pasteurizada la bebida se alcanzó los 13 °Brix. La acidez se determinó por titulación volumétrica de los ácidos presentes en la muestra según parámetros de la norma NTE INEN 013.

3.6.3.5 Pasteurización

La pasteurización se realizó bajo las siguientes condiciones 72°C por 15 segundos, en donde se aplica la técnica de pasteurización de leche (Smit, 2000, p 69) en bebidas a base de frutas.

3.6.3.6 Envasado

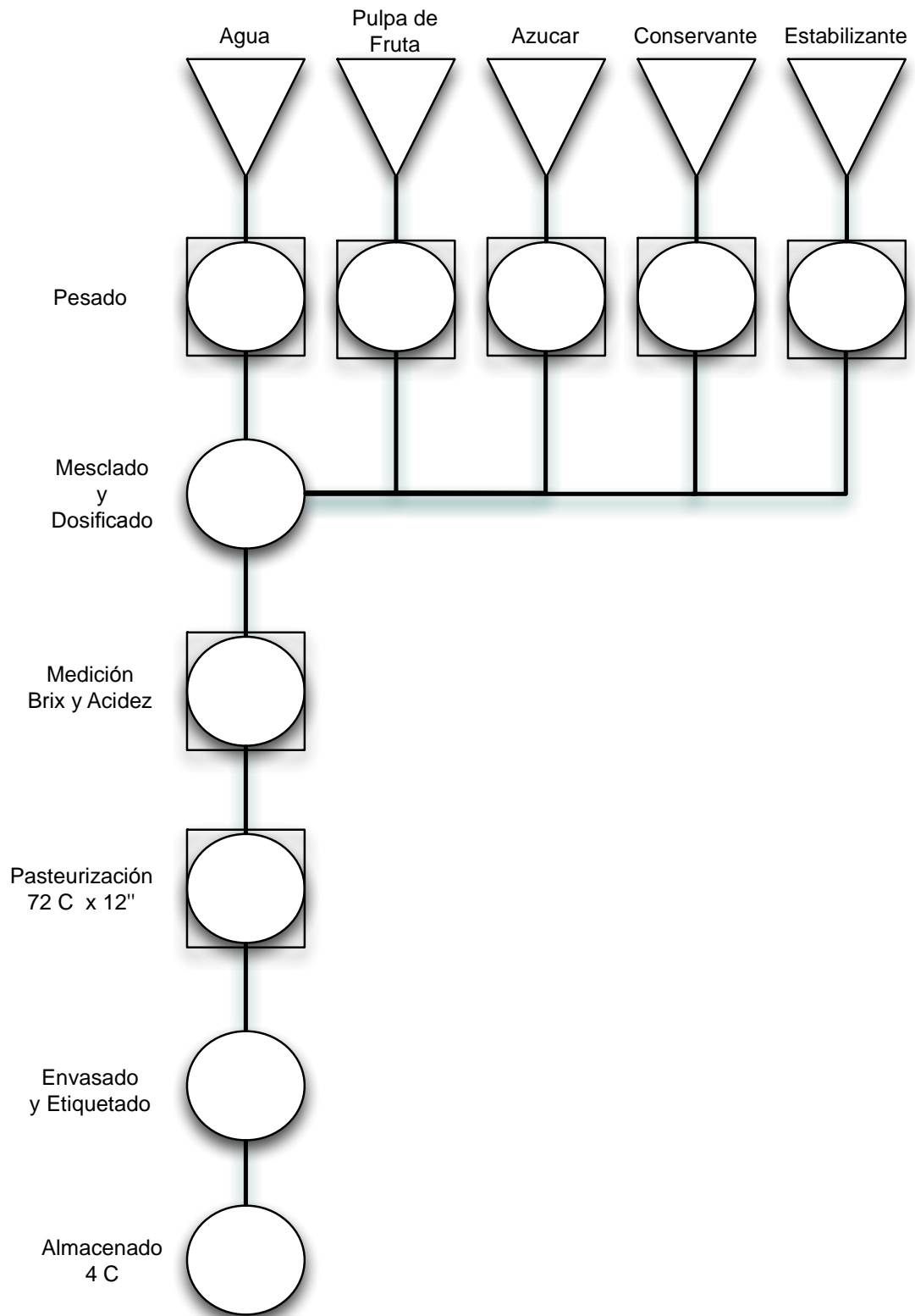
El jugo se envasó de forma manual, en envases de vidrio de 250 ml.

3.6.3.7 Almacenado

Se almacenaron las bebidas en refrigeración a 4°C.

3.7 Diagrama de flujo

Figura 22: Diagrama de flujo elaboración bebida



Fuente: Autor

Figura 23: Elaboración bebidas

A.



B.



Fuente: Autor

- A.** Grados °Brix de la bebida aproximadamente 13 °Brix.
- B.** Bebidas elaboradas según diseño de mezclas.

CAPITULO 4

RESULTADOS

En el siguiente capítulo se presentan los resultados obtenidos de los diferentes análisis en el laboratorio, como son determinación de la actividad antioxidante, determinación de la actividad antirradicalaria, contenido de vitamina C y aceptación de la bebida.

4.1 Determinación de la actividad antioxidante por el método DDPH

4.1.1 Actividad antioxidante mortiño

A continuación se presenta los resultados (Tabla 18), obtenidos durante la determinación de la actividad antioxidante por el método DDPH, descrito en el punto(3.3).

Para la muestra de mortiño se obtuvo un IC_{50} de $47,29 \pm 2$ $\mu\text{g/ml}$, que indica que la muestra tiene una gran cantidad de antioxidantes ya que solo necesita $47,29 \pm 2$ $\mu\text{g/ml}$ de fruto de mortiño para inhibir el 50% de los radicales libres

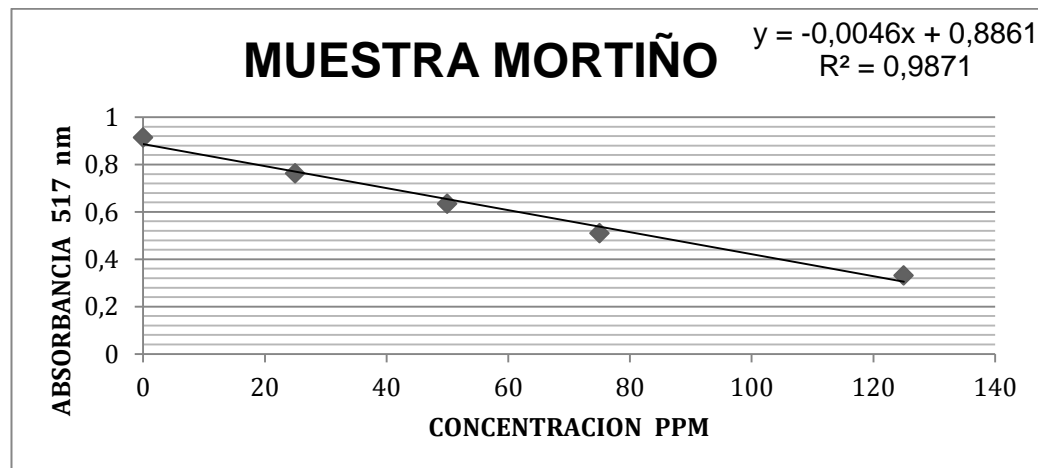
Tabla 18: Resultados actividad antioxidante muestra mortiño

Concentración	Absorbancia	Blanco muestra	% Decoloración
0	0,914		
25	0,763	0,004	16,95842451
50	0,635	0,008	31,40043764
75	0,51	0,012	45,51422319
125	0,331	0,021	66,08315098
250	0,112	0,04	92,12253829
500	0	0,112	0
IC50	47,29±2		

Fuente: Autor

En la siguiente grafica (figura24), se presenta la absorbancia de la muestra de mortiño, en función de la concentración. Donde la absorbancia está representada en el eje de las abscisas y la concentración en el eje de las ordenadas. Se observa el comportamiento de la muestra de mortiño la cual es inversamente proporcional, a mayor concentración menor absorbancia.

Figura 24: Concentración (ppm) vs. Absorbancia muestra mortiño (517nm)



Fuente: Autor

4.1.2 Actividad antioxidante naranjilla

A continuación se presenta los resultados (Tabla 19), obtenidos durante la determinación de la actividad antioxidante por el método DDPH, descrito en el punto (3.3).

Para la muestra de naranjilla se obtuvo un valor IC_{50} de $291,29 \pm 4 \mu\text{g/ml}$, lo que indica que la naranjilla tiene una cantidad de antioxidantes aceptable debido a que necesita $291,29 \pm 4 \mu\text{g/ml}$ de fruto de naranjilla para inhibir el 50% de los radicales libres.

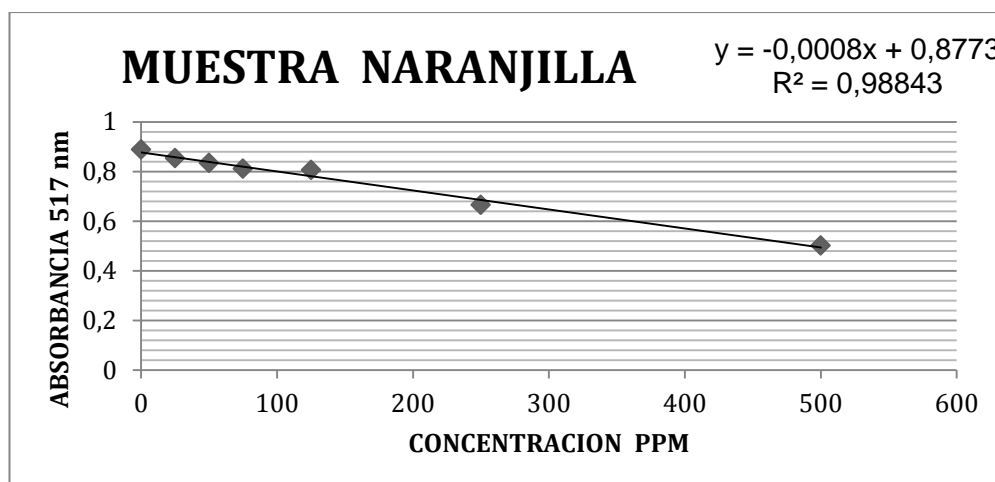
Tabla 19: Resultados actividad antioxidante muestra naranjilla.

Concentración	Absorbancia	Blanco Muestra	% Decoloración
0	0,888		
25	0,853	0	3,941441441
50	0,833	0	6,193693694
75	0,811	0,001	8,783783784
125	0,805	0,007	10,13513514
250	0,665	0,003	25,45045045
500	0,501	0,005	44,14414414
IC50=	291.29±4		

Fuente: Autor

En la siguiente grafica (figura25), se presenta la absorbancia de la muestra de naranjilla, en función de la concentración. En donde la absorbancia está representada en el eje de las abscisas y la concentración en el eje de las ordenadas. Se observa el comportamiento de la muestra de naranjilla la cual es inversamente proporcional, a mayor concentración menor absorbancia.

Figura 25: Concentración (ppm) vs. Absorbancia muestra naranjilla (517nm)



Fuente: Autor

4.1.3 Actividad antioxidante ciruelo

A continuación se presenta los resultados (Tabla 20), obtenidos durante la determinación de la actividad antioxidante por el método DDPH, descrito en el punto(3.3).

Para la muestra de ciruelo se obtuvo un IC_{50} de $354,45 \pm 9$ $\mu\text{g/ml}$, que indica que la muestra tiene una cantidad de antioxidantes aceptables para nuestro fin, ya que solo necesita $354,45 \pm 9$ $\mu\text{g/ml}$ de fruto de mortiño para inhibir el 50% de los radicales libres.

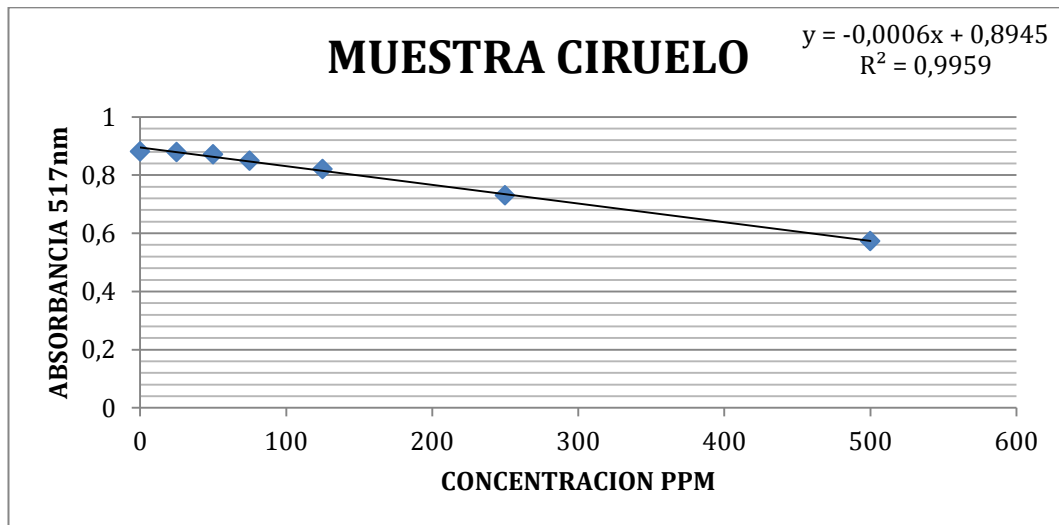
Tabla 20: Resultados actividad antioxidante muestra ciruelo.

Concentración	Absorbancia	Blanco Muestra	% Decoloración
0	0,881		
25	0,879	0	0,227014756
50	0,871	0	1,13507378
75	0,849	0	3,632236095
125	0,821	0	6,810442679
250	0,731	0,002	17,25312145
500	0,573	0,004	35,41430193
IC50=	354,45±9		

Fuente: Autor

En la siguiente grafica (figura26), se presenta la absorbancia de la muestra de ciruelo, en función de la concentración, donde la absorbancia está representada en el eje de las abscisas y la concentración en el eje de las ordenadas. Se observa el comportamiento de la muestra de mortiño la cual es inversamente proporcional, a mayor concentración menor absorbancia.

Figura 26: Concentración (ppm) vs. Absorbancia muestra ciruelo (517nm)



Fuente: Autor

4.1.4 Actividad antioxidante mango

A continuación se presenta los resultados (Tabla 21), obtenidos durante la determinación de la actividad antioxidante por el método DDPH, descrito en el punto(3.3).

Para la muestra de mango se obtuvo un IC_{50} de $378,39 \pm 3$ $\mu\text{g/ml}$, lo que indica que la muestra tiene una cantidad de antioxidantes aceptables, ya que necesita $378,39 \pm 3$ $\mu\text{g/ml}$ de fruto de mortiño para inhibir el 50% de los radicales libres.

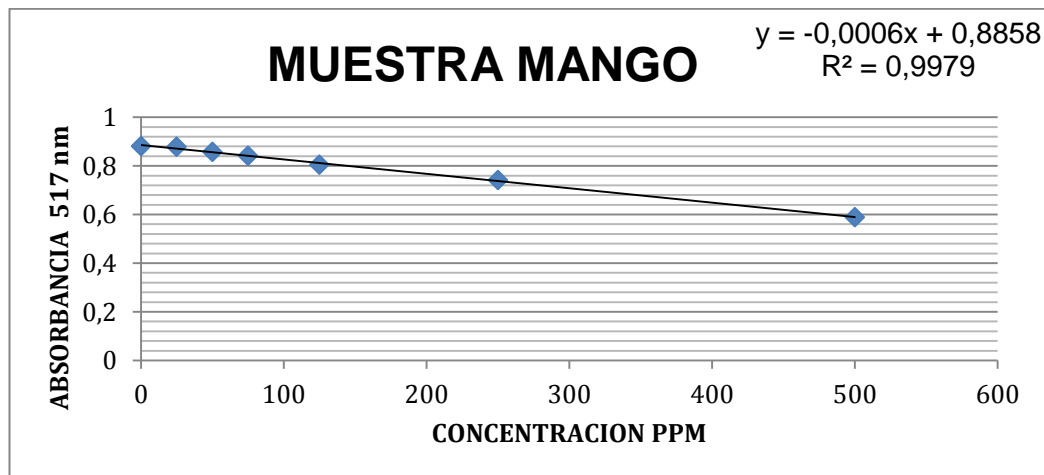
Tabla 21: Resultados actividad antioxidante muestra mango.

Concentración	Absorbancia	Blanco Muestra	% Decoloración
0	0,881		
25	0,878	0	0,340522134
50	0,857	0	2,724177072
75	0,842	0	4,426787741
125	0,805	0	8,626560726
250	0,742	0	15,77752554
500	0,589	0	33,14415437
IC50=	378,39±3		

Fuente: Autor

En la siguiente grafica (figura27), se presenta la absorbancia de la muestra de mango, en función de la concentración. En donde la absorbancia está representada en el eje de las abscisas y la concentración en el eje de las ordenadas. Se observa el comportamiento de la muestra de mortiño la cual es inversamente proporcional, a mayor concentración menor absorbancia.

Figura 27: Concentración (ppm) vs. Absorbancia muestra mango (517nm)



Fuente: Autor

4.1.5 Actividad antioxidante joyapa

A continuación se presenta los resultados (Tabla 22), obtenidos durante la determinación de la actividad antioxidante por el método DDPH, descrito en el punto(3.3).

Para la muestra de joyapa se obtuvo un IC_{50} de $405,6 \pm 1 \mu\text{g/ml}$, lo muestra que la joyapa contiene antioxidantes en cierta cantidad, pero no los necesarios para nuestro fin. Debido a que se necesitan $405,6 \pm 1 \mu\text{g/ml}$ de fruto de joyapa para inhibir el 50% de los radicales libres.

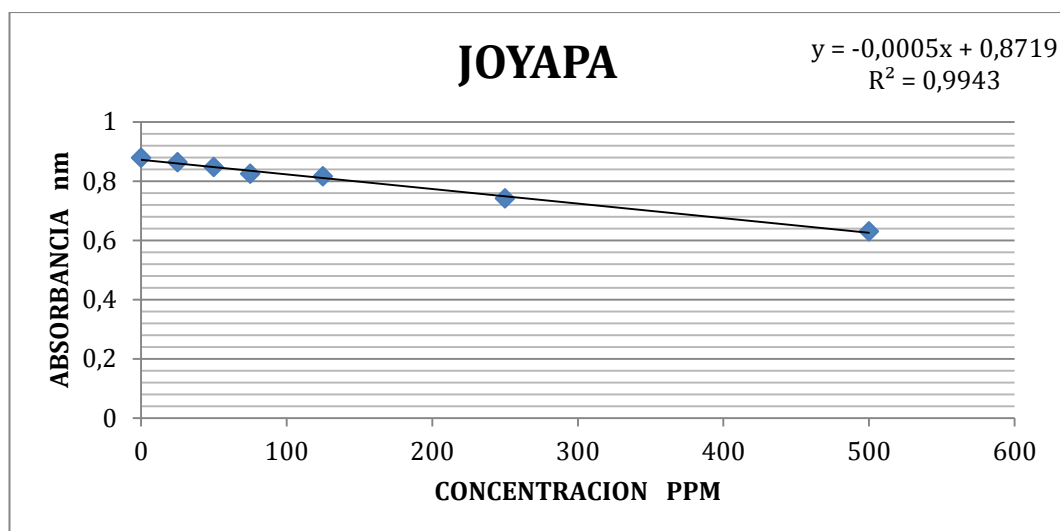
Tabla 22: Resultados actividad antioxidante muestra joyapa.

Concentración	Absorbancia	Blanco Muestra	% Decoloración
0	0,79		
25	0,782	0,001	1,139240506
50	0,778	0,002	1,772151899
75	0,753	0,004	5,189873418
125	0,717	0,008	10,25316456
250	0,665	0,012	17,34177215
500	0,567	0,021	30,88607595
IC50=	405,6±1		

Fuente: Autor

En la siguiente grafica (figura 28), se presenta la absorbancia de la muestra de joyapa, en función de la concentración. En donde la absorbancia está representada en el eje de las abscisas y la concentración en el eje de las ordenadas. Se observa el comportamiento de la muestra de mortiño la cual es inversamente proporcional, a mayor concentración menor absorbancia.

Figura 28: Concentración (ppm) vs. Absorbancia muestra joyapa (517nm)



Fuente: Autor

4.1.6 Actividad antioxidante pepino dulce

A continuación se presenta los resultados (Tabla 23), obtenidos durante la determinación de la actividad antioxidante por el método DDPH, descrito en el punto(3.3).

Para la muestra de pepino se obtuvo un IC_{50} de $1909,61 \pm 118$ $\mu\text{g/ml}$, demostrándonos que el pepino dulce contiene una mínima cantidad de antioxidantes, la cual se podría considerar nula. Debido a que se necesitan $1909,61 \pm 118$ $\mu\text{g/ml}$ de fruto de pepino dulce para inhibir el 50% de los radicales libres.

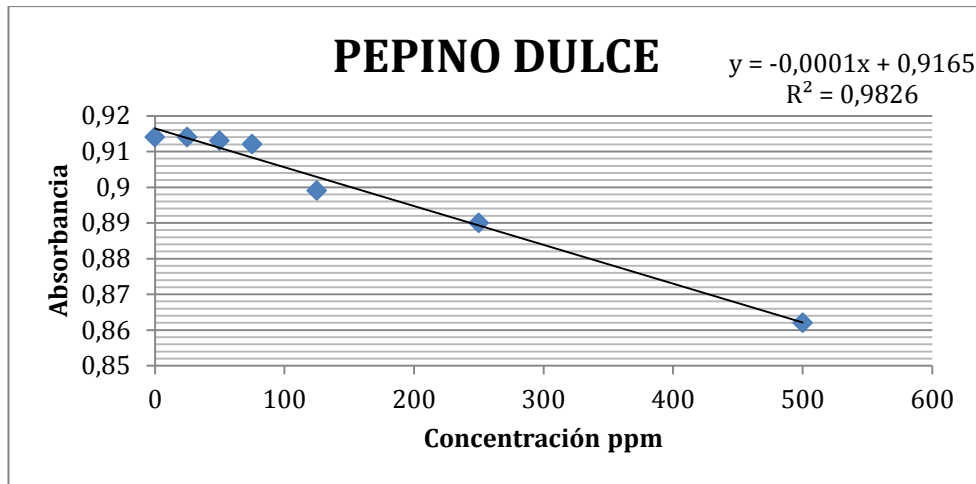
Tabla 23: Resultados actividad antioxidante muestra pepino dulce.

Concentración	Absorbancia	Blanco Muestra	% Decoloración
0	0,914		
25	0,914	0	0
50	0,913	0	0,10940919
75	0,912	0	0,218818381
125	0,899	0	1,641137856
250	0,89	0	2,625820569
500	0,862	0	5,689277899
IC50=	1909,61±118		

Fuente: Autor

En la siguiente grafica (figura29), se presenta la absorbancia de la muestras de pepino dulce, en función de la concentración. En donde la absorbancia está representada en el eje de las abscisas y la concentración en el eje de las ordenadas. Se observa el comportamiento de la muestra de mortiño la cual es inversamente proporcional, a mayor concentración menor absorbancia.

Figura 29: Concentración (ppm) vs. Absorbancia muestra mango (517nm)



Fuente: Autor

En la siguiente tabla (tabla 24) se presenta los resultados obtenidos en los ensayos de determinación de la actividad antioxidante, lo que permite determinar de entre las frutas en estudio, las frutas con mayor actividad antioxidante. Las cuáles fueron utilizadas como materia prima en la elaboración de la bebida con potencial antioxidante siendo, mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*), naranjilla (*Solanum quitoense Lam*) y ciruelo (*Spondias purpúrea L*).

Tabla 24: Actividad antioxidante de las frutas en estudio.

#	Fruta	Actividad antioxidante
1	Mortiño	47,84±2
2	Naranjilla	291,29±4
3	Ciruelo	354,45±9
4	Mango	378,39±3
5	Joyapa	405,60±1
6	Pepino Dulce	1909,61±118

Fuente: Autor

4.2 Determinación actividad antirradicalaria por el método del radical superóxido.

4.2.1 Actividad antirradicalaria mortiño

A continuación se presenta los resultados (Tabla 25) expresados como el porcentaje de inhibición de reducción del NBT con respecto a la mezcla de reacción sin muestra. Estos resultados se obtuvo en los ensayos de determinación de la actividad antirradicalaria mediante el método del radical superóxido, descrito en el punto (3.4). En la cual se obtuvo que la capacidad que posee la muestra de mortiño, para captar el radical superóxido es de $75,87 \pm 2$ %.

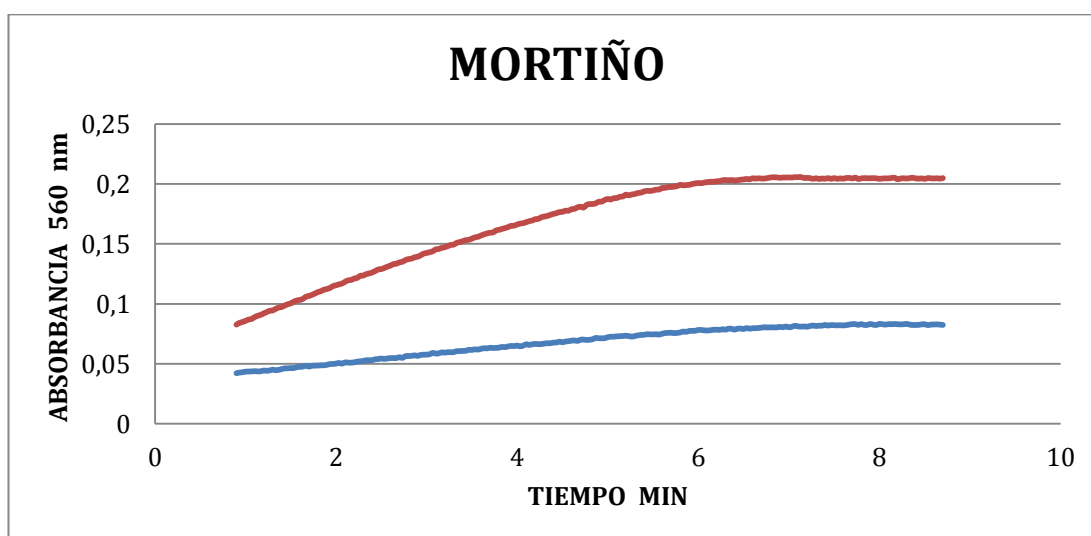
Tabla 25: Resultados actividad antirradicalaria muestra mortiño

	Densidad óptica	Absorbancia
2A	Control	0,205
B	Blanco control	0,002
C	Muestra	0,083
D	Blanco muestra	0,028
	E	0,203
	S	0,053
	% Atrapamiento	75,87±2

Fuente: Autor

En la figura 30, se observa el comportamiento de la muestra de mortiño contra la mezcla de reacción sin muestra. En donde la absorbancia está representada en el eje de las abscisas y el tiempo en minutos en el eje de las ordenadas. La línea roja representa el comportamiento de la mezcla de reacción sin muestra, y la línea azul representa la mezcla de reacción con muestra.

Figura 30: Tiempo (minutos) vs. Absorbancia muestra mortiño (517nm)



Fuente: Autor

4.2.2 Actividad antirradicalaria naranjilla

A continuación se presenta los resultados (Tabla 26) expresados como el porcentaje de inhibición de la reducción de NBT con respecto a la mezcla de reacción sin muestra. Estos resultados se obtuvieron en los ensayos de determinación de la actividad antirradicalaria mediante el método del radical superóxido, descrito en el punto (3.4). En la cual se obtuvo que la capacidad que posee la muestra de naranjilla para captar el radical superóxido es de $33,69 \pm 5$ %.

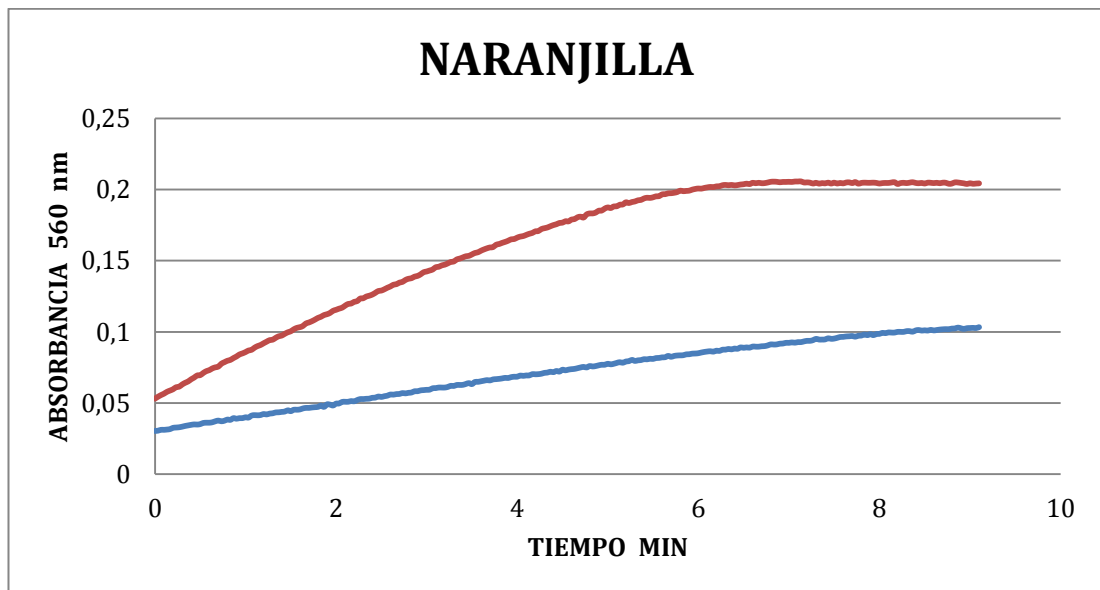
Tabla 26: Resultados actividad antirradicalaria muestra naranjilla

Densidad óptica		Absorbancia
A	Control	0,205
B	Blanco control	0,002
C	Muestra	0,104
D	Blanco muestra	0,02
	E	0,203
	S	0,082
% Atrapamiento		33,69±5

Fuente: Autor

En la figura 31, se muestra el comportamiento de la muestra de naranjilla contra la mezcla de reacción sin muestra. En donde la absorbancia está representada en el eje de las abscisas y el tiempo en minutos en el eje de las ordenadas. La línea roja representa el comportamiento de la mezcla de reacción sin muestra, y la línea azul representa la mezcla de reacción con muestra.

Figura 31: Tiempo (minutos) vs. Absorbancia muestra naranjilla (517nm)



Fuente: Autor

4.2.3 Actividad antirradicalaria ciruelo

A continuación se presenta los resultados (Tabla 27) expresados como el porcentaje de inhibición de la reducción de NBT con respecto a la mezcla de reacción sin muestra. Estos resultados se obtuvieron en los ensayos de determinación de la actividad antirradicalaria mediante el método del radical superóxido, descrito en el punto (3.4). En la cual se obtuvo que la capacidad que posee la muestra de ciruelo para captar el radical superóxido es de $23,73 \pm 5$ %.

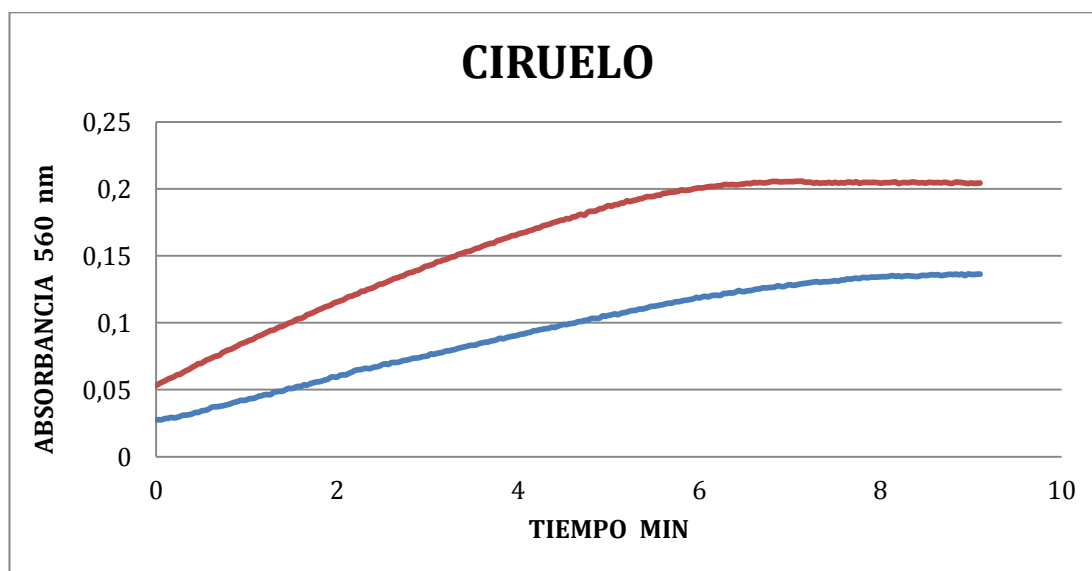
Tabla 27: Resultados actividad antirradicalaria muestra ciruelo

Densidad óptica		Absorbancia
A	Control	0,205
B	Blanco control	0,002
C	Muestra	0,137
D	Blanco muestra	0,013
	E	0,203
	S	0,122
% Atrapamiento		23,73±5

Fuente: Autor

En la figura 32, se observa el comportamiento de la muestra de ciruelo contra la mezcla de reacción sin muestra. En donde la absorbancia está representada en el eje de las abscisas y el tiempo en minutos en el eje de las ordenadas. La línea roja representa el comportamiento de la mezcla de reacción sin muestra, y la línea azul representa la mezcla de reacción con muestra.

Figura 32: Tiempo (minutos) vs. Absorbancia muestra ciruelo (517nm)



Fuente: Autor

4.2.4 Actividad antirradicalaria mango

A continuación se presenta los resultados (Tabla 28) expresados como el porcentaje de inhibición de la reducción de NBT con respecto a la mezcla de reacción sin

muestra. Estos resultados se obtuvieron en los ensayos de determinación de la actividad antirradicalaria mediante el método del radical superóxido, descrito en el punto (3.4). En la cual se obtuvo que la capacidad que posee la muestra de mango para captar el radical superóxido es de $16,4 \pm 1$ %.

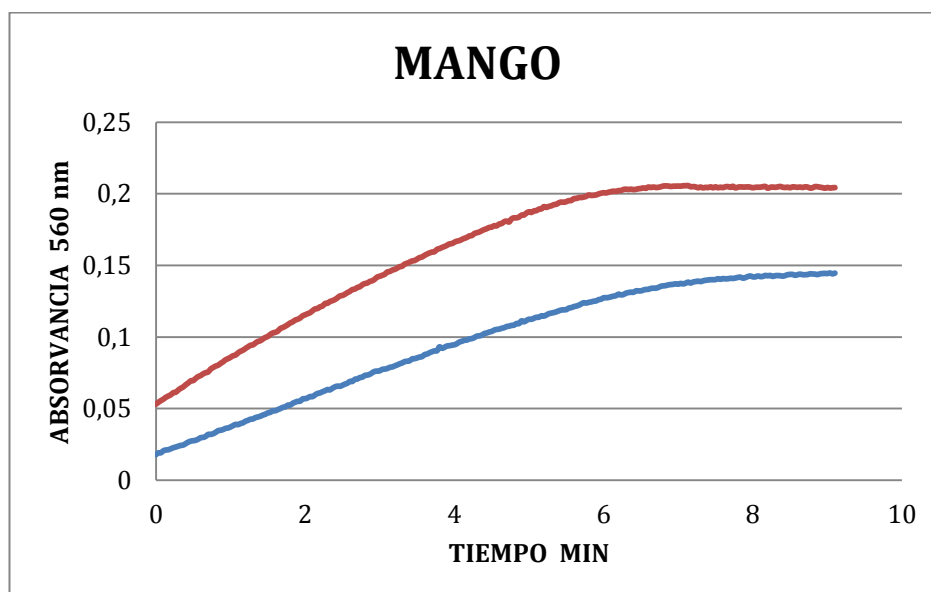
Tabla 28: Resultados actividad antirradicalaria muestra mango

Densidad óptica		Absorbancia
A	Control	0,205
B	Blanco control	0,002
C	Muestra	0,145
D	Blanco muestra	0,001
	E	0,203
	S	0,142
	% Atrapamiento	16,4±1

Fuente: Autor

En la figura 33, se observa el comportamiento de la muestra de mango contra la mezcla de reacción sin muestra. En donde la absorbancia está representada en el eje de las abscisas y el tiempo en minutos en el eje de las ordenadas. La línea roja representa el comportamiento de la mezcla de reacción sin muestra, y la línea azul representa la mezcla de reacción con muestra.

Figura 33: Tiempo (minutos) vs. Absorbancia muestra mango (517nm)



Fuente: Autor

4.2.5 Actividad antirradicalaria joyapa

A continuación se presenta los resultados (Tabla 29) expresados como el porcentaje de inhibición de la reducción de NBT con respecto a la mezcla de reacción sin muestra. Estos resultados se obtuvo en los ensayos de determinación de la actividad antirradicalaria mediante el método del radical superóxido, descrito en el punto (3.4). En la cual se obtuvo que la capacidad que posee la muestra de joyapa para captar el radical superóxido es de $14,39 \pm 1$ %.

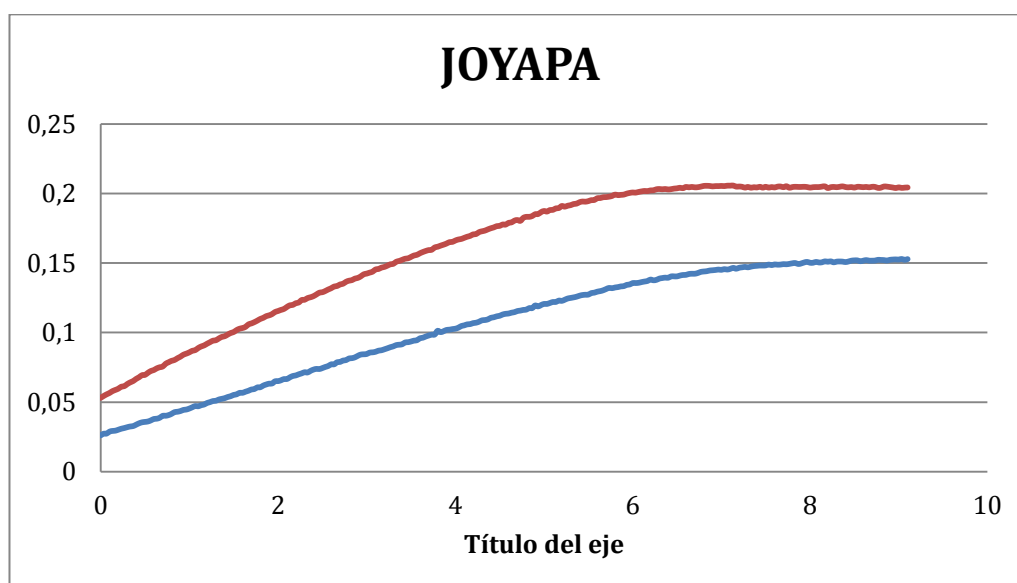
Tabla 29: Resultados actividad antirradicalaria muestra joyapa

Densidad óptica		Absorbancia
A	Control	0,205
B	Blanco control	0,002
C	Muestra	0,152
D	Blanco muestra	0,008
	E	0,203
	S	0,142
	% Atrapamiento	14,39±1

Fuente: Autor

En la figura 34, se observa el comportamiento de la muestra de joyapa contra la mezcla de reacción sin muestra. En donde la absorbancia está representada en el eje de las abscisas y el tiempo en minutos en el eje de las ordenadas. La línea roja representa el comportamiento de la mezcla de reacción sin muestra, y la línea azul representa la mezcla de reacción con muestra.

Figura 34: Tiempo (minutos) vs. Absorbancia muestra joyapa (517nm)



Fuente: Autor

4.2.6 Actividad antirradicalaria pepino dulce

A continuación se presentan los resultados (Tabla 30) expresados como el porcentaje de inhibición de la reducción de NBT con respecto a la mezcla de reacción sin muestra. Estos resultados se obtuvieron en los ensayos de determinación de la actividad antirradicalaria mediante el método del radical superóxido, descrito en el punto (3.4). En la cual se obtuvo que la capacidad que posee la muestra de pepino dulce para captar el radical superóxido es de $2,31 \pm 07$ %.

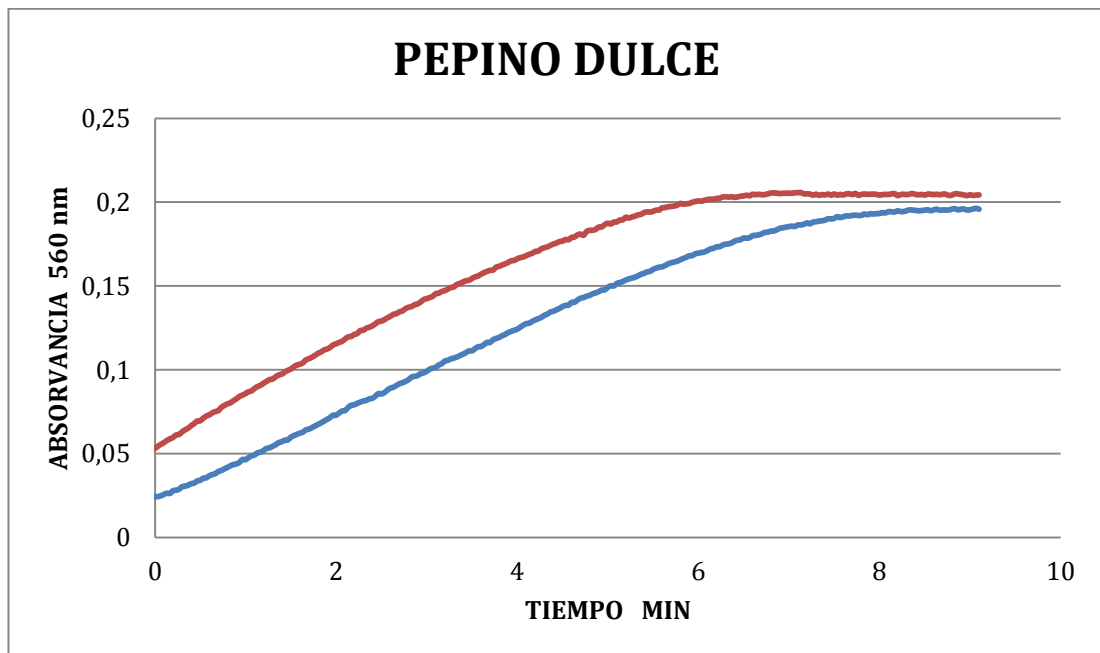
Tabla 30: Resultados actividad antirradicalaria muestra pepino dulce

Densidad óptica		Absorbancia
A	Control	0,205
B	Blanco control	0,002
C	Muestra	0,196
D	Blanco muestra	0,003
	E	0,203
	S	0,191
	% Atrapamiento	2,31±07

Fuente: Autor

En la figura 35, se observa el comportamiento de la muestra de pepino dulce contra la mezcla de reacción sin muestra. En donde la absorbancia está representada en el eje de las abscisas y el tiempo en minutos en el eje de las ordenadas. La línea roja representa el comportamiento de la mezcla de reacción sin muestra, y la línea azul representa la mezcla de reacción con muestra.

Figura 35: Tiempo (minutos) vs. Absorbancia muestra pepino dulce (517nm)



Fuente: Autor

En la siguiente tabla (tabla 31) se detalla los resultados de las frutas en estudio, que se obtuvo en la determinación de la actividad antiradicalaria, en donde las frutas con mayor actividad son mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*), naranjilla (*Solanum quitoense Lam*) y ciruelo (*Spondias purpúrea L*).

Tabla 31: Actividad antiradicalaria de las frutas en estudio

#	Frutas	Actividad antiradicalaria
1	Mortiño	75,87±2
2	Naranjilla	33,69±5
3	Ciruelo	23,73±5
4	Mango	16,4±1
5	Joyapa	14,39±1
6	Pepino Dulce	2,31±07

Fuente: Autor

4.3 Determinación del contenido de vitamina C por método polarografico.

Después de aplicar el método detallado en el punto (3,5) y mediante el software Amel 433 Trace Analyser, se determinó y calculo el contenido de vitamina C (Tabla 32) de las frutas en estudio.

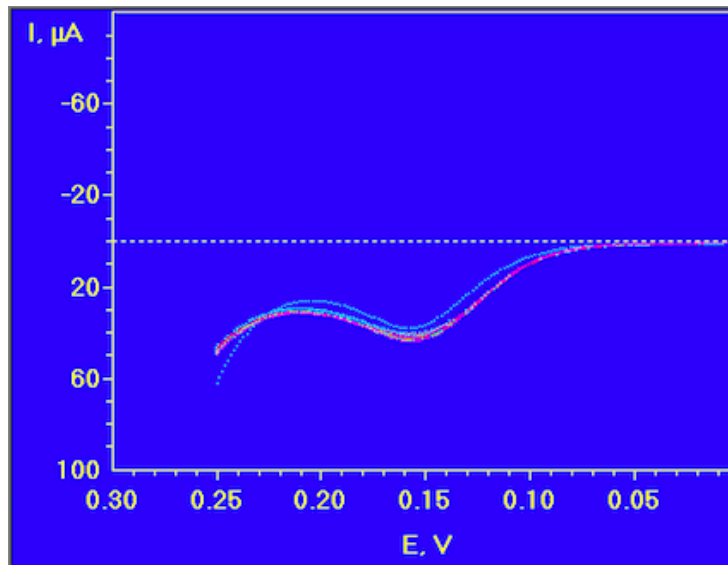
Tabla 32: Contenido de vitamina C de las frutas en estudio.

#	Frutas	Contenido Vitamina C
1	Mortiño	133,24 ppm
2	Naranjilla	124,2 ppm
3	Ciruelo	102,06 ppm
4	Mango	80,2 ppm
5	Joyapa	90,86 ppm
6	Pepino Dulce	78,22 ppm

Fuente: Autor

En la figura 36, se observa la curva obtenida mediante el software Amel 433 Trace Analyser, que muestra el comportamiento de la curva al adicionar ácido ascórbico después de cada lectura.

Figura 36: Comportamiento de la curva para determinación del contenido de vitamina C



Fuente: Autor

4.4 Elaboración de la bebida con potencial antioxidante y antiradicalaria.

Una vez que se obtuvo los resultados de los ensayos (Tabla 33), se identificó las frutas con mayor actividad que fueron: mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth), naranjilla (*Solanum quitoense* Lam) y ciruelo (*Spondias purpúrea* L.), las cuales se utilizó como materia prima para la elaboración de la bebida, según descrito en el punto (3,6).

Tabla 33: Resultados frutas con mayor actividad.

#	Fruta	Actividad Antioxidante	Actividad Antiradicalaria	Contenido Vitamina C
1	Mortiño	47,84±2	75,87±2	133,24
2	Naranjilla	291,2±4	33,69±5	124,2
3	Ciruelo	354,45±9	23,73±5	102,06
4	Mango	378,39±3	16,4±1	80,2
5	Joyapa	405,6±1	14,39±1	90,86
6	Pepino Dulce	1909,61±118	2,31±0,7	78,22

Fuente: Autor

4.4.1 Resultado análisis sensorial

A continuación en las tablas 34-43 se indica los resultados que se obtuvo en las pruebas de análisis mediante fichas de cata (Anexo 2), en donde se midieron varias características como apariencia, aroma, sabor, color.

Los diferentes experimentos se realizaron variando en la formulación en contenido de pulpa de fruta según tabla 16.

Tabla 34: Resultados análisis sensorial experimento 1.

# MUESTRAS		CARACTERISTICAS	PUNTUACION	SOBRE	CALIFICACION / 100
MASCULINO	13	APARIENCIA	111	130	85,38
FEMENINO	7	AROMA	118	130	90,77
TOTAL MUESTRAS	20	SABOR	209	260	80,38
		GENERAL	105	130	80,77
		TOTAL	543	650	83,54
CALIFICACION GENERAL					84,17

Fuente: Autor

Tabla 35: Resultados análisis sensorial experimento 2.

# MUESTRAS		CARACTERISTICAS	PUNTUACION	SOBRE	CALIFICACION / 100
MASCULINO	13	APARIENCIA	39	50	78,00
FEMENINO	7	AROMA	38	50	76,00
TOTAL MUESTRAS	20	SABOR	83	100	83,00
		GENERAL	38	50	76,00
		TOTAL	198	250	79,20
CALIFICACION GENERAL					78,44

Fuente: Autor

Tabla 36: Resultados análisis sensorial experimento 3.

# MUESTRAS		CARACTERISTICAS	PUNTUACION	SOBRE	CALIFICACION / 100
MASCULINO	13	APARIENCIA	47	60	78,33
FEMENINO	7	AROMA	36	60	60,00
TOTAL MUESTRAS	20	SABOR	88	120	73,33
		GENERAL	40	60	66,67
		TOTAL	211	300	70,33
CALIFICACION GENERAL					69,73

Fuente: Autor

Tabla 37: Resultados análisis sensorial experimento 4.

# MUESTRAS		CARACTERISTICAS	PUNTUACION	SOBRE	CALIFICACION / 100
MASCULINO	13	APARIENCIA	27	40	67,50
FEMENINO	7	AROMA	35	40	87,50
TOTAL MUESTRAS	20	SABOR	63	80	78,75
		GENERAL	30	40	75,00
		TOTAL	155	200	77,50
CALIFICACION GENERAL					77,25

Fuente: Autor

Tabla 38: Resultados análisis sensorial experimento 5.

# MUESTRAS		CARACTERISTICAS	PUNTUACION	SOBRE	CALIFICACION / 100
MASCULINO	13	APARIENCIA	34	40	85,00
FEMENINO	7	AROMA	24	40	60,00
TOTAL MUESTRAS	20	SABOR	59	80	73,75
		GENERAL	28	40	70,00
		TOTAL	145	200	72,50
CALIFICACION GENERAL					72,25

Fuente: Autor

Tabla 39: Resultados análisis sensorial experimento 6.

# MUESTRAS		CARACTERISTICAS	PUNTUACION	SOBRE	CALIFICACION / 100
MASCULINO	13	APARIENCIA	32	40	80,00
FEMENINO	7	AROMA	28	40	70,00
TOTAL MUESTRAS	20	SABOR	61	80	76,25
		GENERAL	28	40	70,00
		TOTAL	149	200	74,50
CALIFICACION GENERAL					74,15

Fuente: Autor

Tabla 40: Resultados análisis sensorial experimento 7.

# MUESTRAS		CARACTERISTICAS	PUNTUACION	SOBRE	CALIFICACION / 100
MASCULINO	13	APARIENCIA	32	40	80,00
FEMENINO	7	AROMA	33	40	82,50
TOTAL MUESTRAS	20	SABOR	71	80	88,75
		GENERAL	34	40	85,00
		TOTAL	170	200	85,00
CALIFICACION GENERAL					84,25

Fuente: Autor

Tabla 41: Resultados análisis sensorial experimento 8.

# MUESTRAS		CARACTERISTICAS	PUNTUACION	SOBRE	CALIFICACION / 100
MASCULINO	13	APARIENCIA	36	40	90,00
FEMENINO	7	AROMA	33	40	82,50
TOTAL MUESTRAS	20	SABOR	67	80	83,75
		GENERAL	38	40	95,00
		TOTAL	174	200	87,00
CALIFICACION GENERAL					87,65

Fuente: Autor

Tabla 42: Resultados análisis sensorial experimento 9.

# MUESTRAS		CARACTERISTICAS	PUNTUACION	SOBRE	CALIFICACION / 100
MASCULINO	13	APARIENCIA	32	40	80,00
FEMENINO	7	AROMA	24	40	60,00
TOTAL MUESTRAS	20	SABOR	67	80	83,75
		GENERAL	30	40	75,00
		TOTAL	153	200	76,50
CALIFICACION GENERAL					75,05

Fuente: Autor

Tabla 43: Resultados análisis sensorial experimento 10.

# MUESTRAS		CARACTERISTICAS	PUNTUACION	SOBRE	CALIFICACION / 100
MASCULINO	13	APARIENCIA	30	40	75,00
FEMENINO	7	AROMA	28	40	70,00
TOTAL MUESTRAS	20	SABOR	65	80	81,25
		GENERAL	30	40	75,00
		TOTAL	153	200	76,50
CALIFICACION GENERAL					75,55

Fuente: Autor

4.4.2 Resultados Diseño de mezclas.

En la tabla 44 se observa los resultados que se obtuvo en el análisis sensorial y en la determinación de la actividad antioxidante. A partir de estos resultados se pudo calcular función aceptación, IC50 y la función deseabilidad total según descrito (3.6.1.1)

Tabla 44: Resultados diseño de mezclas (actividad antioxidante vs. análisis sensorial)

Orden Est	Nar.	Cir.	Mort.	Acept.	IC50	F des Acept.	F des I50	FD tot
4	0,50	0,50	0,00	77,25	721,28	0,77	0,40	0,56
5	0,50	0,00	0,50	72,25	750,88	0,72	0,37	0,52
7	0,33	0,33	0,33	84,25	591,19	0,84	0,51	0,65
3	0,00	0,00	1,00	69,73	425,19	0,70	0,65	0,67
8	0,67	0,17	0,17	87,65	566,13	0,88	0,53	0,68
6	0,00	0,50	0,50	74,15	567,20	0,74	0,53	0,63
9	0,17	0,67	0,17	75,05	789,47	0,75	0,34	0,51
10	0,17	0,17	0,67	75,55	606,29	0,76	0,49	0,61
1	1,00	0,00	0,00	84,17	475,51	0,84	0,60	0,71
2	0,00	1,00	0,00	78,44	1149,90	0,78	0,04	0,18

Fuente: Autor

En la tabla 45 se observa el modelo matemático para los resultados que se obtuvo de la aceptación. En donde se ve que el margen de error para el modelo lineal tiene un rango de error del 22% por lo que no se le puede considerar debido a que el máximo permitido es de un 5%, es decir no existe un modelo matemático lineal.

Tabla 45: Modelo matemático para aceptación.

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Regresión	5	172.290	172.290	344.580	1.06	0.489
Lineal	2	161.922	143.779	718.896	2.22	0.225
Cuadrática	3	10.368	10.368	34.559	0.11	0.952
A*B	1	0.056	0.067	0.0669	0.00	0.966
A*C	1	0.079	0.090	0.0902	0.00	0.960
B*C	1	10.233	10.233	102.326	0.32	0.604
Error	residual	4	129.475	129.475	323.688	
Total	9	301.765				

Fuente: Autor

En la tabla 46 se muestra el modelo matemático para los resultados que se obtuvo en la determinación de la actividad antioxidante. Donde se observa que existe un modelo cuadrático con margen de seguridad del 99%.

Tabla 46: Modelo matemático para IC50.

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Regresión	5	373305	373305	74661	31.42	0.003
Lineal	2	252412	360684	180342	75.90	0.001
Cuadrática	3	120893	120893	40298	16.96	0.010
A*B	1	13510	13476	13476	5.67	0.076
A*C	1	59505	58849	58849	24.77	0.008
B*C	1	47878	47878	47878	20.15	0.011
Error	residual	4	9504	9504	2376	
Total	9	382809				

Fuente: Autor

En la figura 37 se observa que las bebidas a base de naranjilla y mortiño son las que mayor actividad antioxidante. Y por el contrario las bebidas con ciruelo son las que menor actividad poseen.

Figura 37: Grafica contorno de mezclas para IC50



Fuente: Autor

En la tabla 47 se presenta el modelo matemático para los resultados de la función deseabilidad, en el que puede ver que el margen de seguridad es de un 99%.

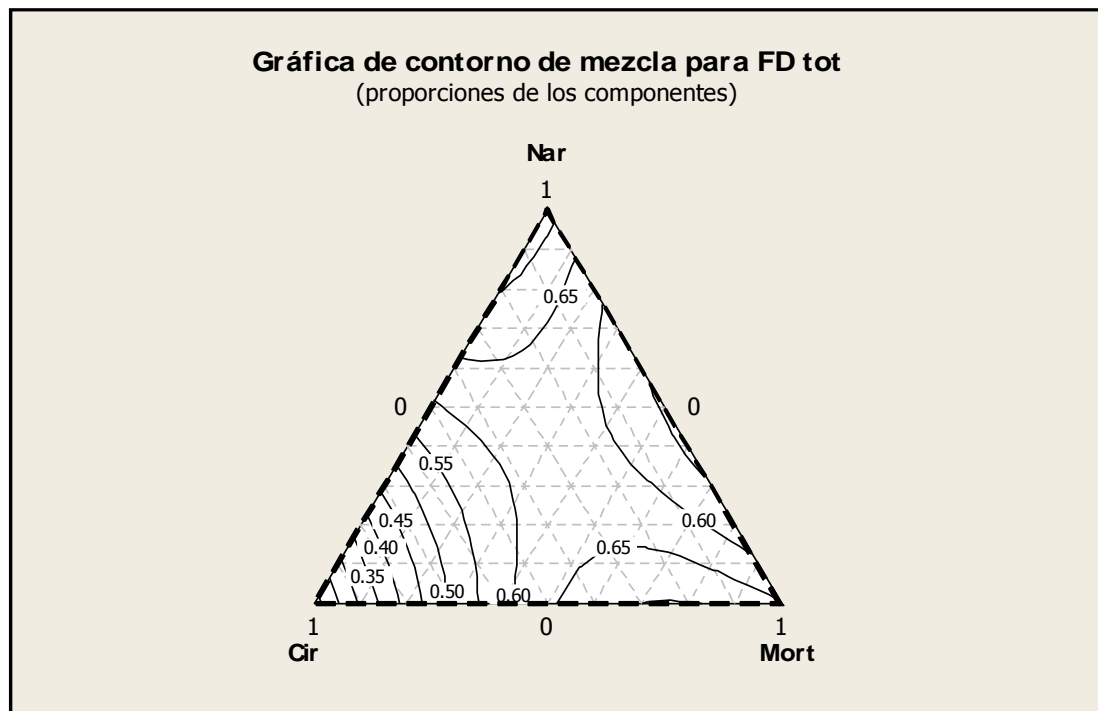
Tabla 47: Modelo matemático para función deseabilidad.

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Regresión	5	0.423054	0.423054	0.084611	37.42	0.002
Lineal	2	0.272088	0.390930	0.195465	86.44	0.001
Cuadrática	3	0.150966	0.150966	0.050322	22.25	0.006
A*B	1	0.035709	0.035953	0.035953	15.90	0.016
A*C	1	0.033028	0.032391	0.032391	14.32	0.019
B*C	1	0.082229	0.082229	0.082229	36.36	0.004
Error	residual	4	0.009045	0.009045	0.002261	
Total	9	0.432100				

Fuente: Autor

A continuación en la figura 38 se la gráfica de la función de deseabilidad total.

Figura 38: Grafica contorno de mezclas para función deseabilidad total.



Fuente: Autor

CAPITULO V

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En este capítulo analizamos los resultados obtenidos en laboratorio *in vitro*, en el cual se detallan las frutas más relevantes en cuanto a su actividad antioxidante, antirradicalaria y contenido de vitamina C. Así como los resultados en la bebida final y el comportamiento de la misma.

5.1 Discusión

En el ensayo de la actividad antioxidante mediante el método DPPH, se obtuvo que la fruta con mayor actividad es el mortiño ya que necesita $47,84 \pm 2$ $\mu\text{g/ml}$ de pulpa para inhibir el 50% de los radicales libres del 1,1-difenil-2-picril hidrazilo (DPPH) obteniéndose un valor similar al de otras publicaciones en la cual citan que el mortiño tiene una actividad de $51,16$ $\mu\text{g/ml}$ (Faican, 2009, p 52). De igual manera se obtuvo para el caso de la joyapa un valor de $405,60 \pm 1$ $\mu\text{g/ml}$ el cual es bastante comparable con el de Reyna obteniendo un valor de $469,81$ $\mu\text{g/ml}$ (Reyna, 2012, p 31). En el caso de las demás frutas no se pueden comparar con otros resultados ya que no existen estudios, y en algunos casos existen datos pero no son comparables debida a que se les expresa en otras medidas como por ejemplo el propuesto por Kuskoski. (Kuskoski y col, 2005)

En el caso de la naranjilla se obtuvo un valor de $291,29 \pm 4$ $\mu\text{g/ml}$ y en el ciruelo $354,45 \pm 9$ $\mu\text{g/ml}$, ocupando en segundo y tercer lugar respectivamente, siendo las frutas con mayor actividad a excepción del mortiño como se menciona anteriormente. En cuanto al mango se obtuvo un valor de $378,39 \pm 3$ $\mu\text{g/ml}$, y con el pepino dulce $1909,61 \pm 118$ $\mu\text{g/ml}$, siendo la fruta con menor actividad antioxidante.

En el ensayo de la actividad antirradicalaria mediante el método del radical superoxido, según resultados (tabla 31), podemos ver que el porcentaje de atrapamiento del radical libre varia, desde el $2,31 \pm 07\%$ siendo la actividad más baja, hasta el $75,87 \pm 2\%$ la actividad más alta. En donde que los frutos tuvieron un comportamiento similar al presentado en la actividad antioxidante.

Según bibliografía en el caso del mortiño el valor obtenido $75,87 \pm 2\%$ es similar, al obtenido por Faican en su trabajo ya que cita que el mortiño tiene un porcentaje de atrapamiento de 81,16% (Faican, 2009, pp67). Para el caso de los demás frutos, no se encontró estudios similares debido a eso no se pudo comparar los resultados obtenidos.

En la cuantificación del contenido de vitamina C mediante método polarografico, expresado en contenido de ácido ascórbico que es un constituyente de baja concentración en las frutas, pero es de suma importancia para la nutrición humana y la prevención de enfermedades por sus propiedades antioxidantes. Se obtuvieron resultados semejantes en a los obtenidos en los ensayos anteriores, debido a que las frutas que sobresalieron fueron las mismas que sobresalieron en los ensayos anteriores, siendo el mortiño, naranjilla y ciruelo las frutas que tuvieron mayor contenido de vitamina C.

El contenido de vitamina C de las frutas en estudio es variable en función de las condiciones climáticas, las prácticas culturales, grado de madurez y el material vegetal (variedad) utilizado. Por lo que es difícil comparar los resultados obtenidos. En el caso el mortiño el valor obtenido fue de 133,14 ppm el cual se puede comprar con los siguientes resultados 140,1 ppm (Pérez, Valdivieso, 2007) 170 ppm (Benenaula, 2009, p31). Para la naranjilla se obtuvo un valor de 124 ppm el cual según bibliografía vemos que este fruto es bastante variable donde se obtiene resultados de 480 ppm (santa cruz, 2004), 300,8ppm (Escobar, 2001, p13), 40,16 - 110,95 (González y col, 2013). En el ensayo del ciruelo el valor obtenido fue 102,06 ppm, en la bibliografía citada podemos ver que existen valores de hasta 490 ppm (Kiziol M., Macia M., 1998). En el caso del mango 80,2 ppm y según bibliografía podemos ver que el contenido de vitamina C en este fruto puede variar 270,7 ppm (USDA, 2006) 13 -1780 ppm (Rincón y col, 2008, p5). En la joyapa el contenido fue 90,86 ppm y según Reyes podemos ver que pueden contener valores menores como de 40,46 ppm (Reyes y col, 2007). Y por último en el caso del pepino dulce se obtuvo un valor de 78,22 ppm en donde según bibliografía se puede ver que pueden haber frutos con contenido mucho más alto que puede oscilar entre 300-700 ppm (Kadel, 2013).

Para el caso de las bebida con potencial antioxidante se ocuparon las frutas con mayor actividad y contenido de vitamina C, las cuales fueron mortiño, naranjilla, ciruelo. A partir de estas se formuló la bebida aplicando un diseño de mezclas simplex reticular aumentado, en el que se cuantificó dos variables: la aceptación para la cual no existió modelo matemático debido a que el nivel de confianza del modelo fue del 78%, que es más bajo del 95% y no se le pudo considerar, este se debió a que la catación se efectuó con un panel de catadores no entrenados los cuales no identificaron las diferencias entre una bebida y otra.

En cuanto a la actividad antioxidante se logró obtener un modelo matemático de hasta segundo orden con un nivel de confianza del 99% en donde según la gráfica 37 se puede observar que existe mayor actividad hacia la bebida con mortiño seguida de las bebidas a base de naranjilla. A partir de variables se unieron estas dos variables para obtener la función deseabilidad total .

En la gráfica 38 se puede observar que la bebida más eficientes en actividad y aceptación fue la bebida a base de mortiño en un 80%, y ciruelo en un 20%, también se puede identificar que también existió un buen comportamiento en la bebida a base de naranjilla en un 90 % y ciruelo en un 10%.

CONCLUSIONES

Al finalizar la presente investigación se llegó a las siguientes conclusiones:

- Mediante el ensayo de la actividad antioxidante por el método DPPH, se logró identificar las frutas con mayor contenido de compuestos antioxidantes, siendo el mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) claramente la fruta con mayor cantidad de antioxidantes seguida por la naranjilla (*Solanum quitoense* Lam) y ciruelo (*Spondias purpúrea* L).
- En cuanto al ensayo de la actividad antiradicalaria, de igual manera se logró identificar que el mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) es la fruta que mayor capacidad antiradicalaria posee seguida de la naranjilla (*Solanum quitoense* Lam) y ciruelo (*Spondias purpúrea* L).
- En cuanto a la cuantificación de contenido de vitamina C se pudo identificar, que el contenido de la misma depende muchísimo del tipo, variedad, clima y grado de madurez del fruto, ya que al encontrarse en pequeñas cantidades, y ser de fácil oxidación los resultados varían fácilmente. En este caso la fruta con mayor contenido de vitamina C fue de igual manera el mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) seguida de la naranjilla (*Solanum quitoense* Lam) y ciruelo (*Spondias purpúrea* L).
- En cuanto a la bebida se logró 2 formulaciones con un importante contenido de compuestos antioxidantes y con buena aceptación frente a los catadores, mismas que fueron la bebida a base de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) en un 80%, y ciruelo (*Spondias purpurea* L) en un 20%, seguida de la bebida a base de naranjilla (*Solanum quitoense* Lam) en un 90 % y ciruelo (*Spondias purpurea* L) en un 10%.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar otros estudios de este tipo ya que existe poca información, también estudiar otras especies las cuales pueden ser de gran interés. De igual manera se debería plantear un método unificado para la aplicación de estos ensayos, ya que existen numerosos métodos los cuales se expresan de diferentes maneras y muchas de las veces la información no se la puede cotejar.
- También se recomienda el momento de la elección de las frutas a estudio identificar el tiempo de cosecha de las mismas ya que muchas de estas son estacionarias y puede variar sus propiedades.
- Se recomienda promover la siembra de estos frutos ya que muchos de estos no se los consigue fácilmente. Especialmente del mortiño ya que al ser un fruto de gran interés debido a sus propiedades antioxidantes las cuales ayudan a combatir múltiples enfermedades crónicas.
- Se recomienda incluir a las frutas estudiadas en la dieta diaria especialmente al mortiño, naranjilla y ciruelo ya que son fuente importante de vitaminas, minerales y componentes antioxidantes los mismos que nos ayudan a combatir un gran número de enfermedades.

BIBLIOGRAFÍA

ÁLVAREZ, ME 2010, “Caracterización morfológica de flor y fruto de los cultivares de Jocote *Spondias purpurea* L. Presentes en el departamento de Chiquimula”, Tesis para obtener el Título de Ingeniero Agrónomo, Universidad San Carlos, Guatemala, http://cunori.edu.gt/descargas/Caracterizacin_Jocote_Otto_Alvarez.pdf, Consultado 19 marzo del 2014.

ALVÍDREZ-Morales Alicia, Blanca Edelia González-Martínez, Zacarías Jiménez-Salas, 2002 “Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales”, Facultad de Salud Pública y Nutrición. Universidad Autónoma de Nuevo León (México), Vol 3, Consultado 10 de junio del 2013.

BAFNA Ar, Mishra Sh, 2005, “Actividad antioxidante in vitro del de metanol de os rizoma de *Curculigo orchioides* Gaertn” Departamento de Farmacia, Facultad de Tecnología e Ingeniería, University of Baroda, Gujrat – India.

BLANCA J., Prohens J, Gregory J. Anderson A., Zuriaga E, Cañizares J., Nuez F., 2007 “AFLP and DNA sequence variation in an Andean domesticate, pepino (*Solanum muricatum*,): implications for evolution and domestication” Instituto para la Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.

CABAÑAS, M., de la Luz, M., Lamothe, A. L., Suárez, D., Domínguez, Y. Prácticas de Botánica Morfológica y Sistemática, 2005)

CORZO Barragán Diana Carolina, 2012 “Desarrollar ensayos experimentales de evaluación del potencial de uso y aprovechamiento de tres especies vegetales para la apropiación del recurso florístico en la región capital”, Jardín botánico José Celestino, Subdirección Científica, Bogotá- Colombia.

ELEJALDE, 2001 “Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes” , <http://scielo.isciii.es/pdf/ami/v18n6/revision1.pdf>, Med. Interna (Madrid) v.18 , Consulta 13 de Junio 2013

ESCOBAR L., 2011, “estudio del efecto de la micro filtración tangencial del jugo de

naranja variedad INIAP quiteño 2009, sobre las características físico-químicas, sensoriales, microbiológicas y capacidad antioxidante “Universidad tecnológica equinoccial, Facultad de ciencias de la ingeniería, Carrera de ingeniería de alimentos.

ESCOBAR Lorena F., 2011, “Estudio del efecto de la micro filtración tangencial del jugo de naranja variedad INIAP quiteño 2009, sobre las características físico-químicas, sensoriales, microbiológicas y capacidad antioxidante”, Universidad Tecnológica Equinoccial, Facultad de Ciencias de la Ingeniería, Carrera de Ingeniería de Alimentos, Quito – Ecuador

FAICAN Benenaula Maria, 2009 “Potencial antioxidante y caracterización de AND de plantas nativas ecuatorianas: Mortiño, Ataco y Maíz morado”, Escuela de Ingeniería en Alimentos, Facultad de Ciencia y tecnología, Universidad del Azuay, Cuenca – Ecuador.

FERREIRA R (1998) “Estrés oxidativo y antioxidantes”, Buenos Aires- Bago, Consultado, 26 marzo del 2014.

GONZÁLEZ D., Ordóñez L., Vanegas P., Vásquez H., 2013 “Cambios en las propiedades físico-químicas de frutos de lulo (*Solanum quiteño* Lam.) cosechados en tres grados de madurez”, Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, Facultad de Ingeniería y Administración.

GUTIERREZ H, de la Vara R., 2008 “Análisis y diseño de experimentos”, Diseño de experimentos con mezclas- capítulo 15, 2ª ed., McGraw Hill Interamericana, México. Consultado enero del 2014

KOSTERMANS AJGH (1991) Kedondong, Ambare-lla, and Amra: The Spondiadeae (Anacardiaceae) in Asia and the Pacific Area. Herbarium Bogoriense. Bogor, Indonesia. 100 pp.

KADER Adel K., 2013, “Pepino dulce: Recomendaciones para mantener la calidad postcosecha”, Departement of plant Sciences, University of California, http://postharvest.ucdavis.edu/frutasymelones/pepino_dulce/

KUSKOSKI M., Asuero A., Troncoso A., Mancini-Filho J., Fett R., 2005 “

Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos”, http://www.scielo.br/scielo.php?pid=s0101-206120050004000168&script=sci_arttext, Food Science and Technology, Cienc. Technol. Aliment., vol.25 no4 Campinas. Consultado 28 Mayo del 2014.

LAGOS-Burbano, T. C., Ordóñez-Jurado, H., Criollo-Escobar, H., Burbano, S., & Martínez, Y. (2010). Descripción de frutales nativos de la familia Ericaceae en el altiplano de Pasto, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 4(1), 9-18.

LOJÁN, L. (2003). *El Verdor de los Andes Ecuatorianos: realidades y promesas.* Ecuador: SOBOC Grafic. 296 pp.

LUTEYN, J. 1996. Flora of Ecuador. Berlín-Alemania. Editorial Borrada. V. 54. pp. 320-330.

MARTÍNEZ & Cevallos, AH 2005, “Arquitectura foliar de Anacardiaceae”, *Revista Mexicana de Biodiversidad* 2005, <http://www.redalyc.org/pdf/425/42576203.pdf> , Consultado 20 marzo del 2014

MOLYNEUX, P. (2004). “ The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity” <http://std.kku.ac.th> , Consulta 14 de unio 2013

NUEZ F. Ruiz J. J.. 1996. El pepino dulce y su cultivo Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, Italy.

OCHSE, J.; Soule, M.; Dijkman, M. y Wehlburg, C. 1980. Cultivo y mejoramiento de plantas tropicales y subtropicales. Vol 1. Ed. Limusa. México.

ORTIZ R., Marinez Y., Heernandez R., 2006, “Técnicas electro analíticas - Voltametría”, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Mérida. Consultado: Mayo 2014.

PAREJO. I., Viladomat, F., Bastida,J., Rosas-Romero, A. Saavedra, G., Murcia, M. Jiménez, A., Codina, C. (2003). “Investigation on Bolivian plant extracts for their

radical scavenging activity and antioxidant activity.”, La Paz- Bolivia, Consultado: 1 de mayo 2014

PELAEZ Enelia Cristina, 2009 “ Actividad antioxidante del extracto en diclorometano de *palicourea guianensis* aubl. (rubiaceae)”, Escuela de química, Universidad tecnológica de Pereira, Colombia- Pereira, Consultado 23 de mayo 2014..

PÉREZ S., Valdivieso C., 2007,“Colección y caracterización morfológica in situ del mortiño (*vaccinium floribundum* kunt) en la sierra norte de Ecuador”, Departamento de ciencias de la vida, Carrera de ingeniería en ciencias agropecuarias, Escuela Politécnica del Ejército, Sangolquí- Ecuador.

PINEDA Alonso Daymy, MÚnica Salucci, Regina Lázaro, Giuseppe Maiani y Anna Ferro-Luzzi, 1999 “Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos”, Consultado, 15 junio del 2013.

PROHENS J. Ruiz J. J. Nuez F.. 1996. The pepino (*Solanum muricatum*, Solanaceae): a “new” crop with a history. *Economic Botany* 50: 255-268.

REYES J., . Abarca J., Delgado F., 2007 “Caracterización fisicoquímica y tecnológica de cinco frutos silvestres nativos comestibles del cantón Loja (*cavendishia bracteata*, *macleania salapa*, *macleania rupestris*, *hesperomeles obtusifolia* y *hesperomeles ferruginea*) y sus alternativas de industrialización”, Universidad Técnica Particular de Loja, Centro de Transferencia de Tecnología e Investigación Agroindustrial (CETTIA)

REVELO, J.; Viteri, P.; Vásquez, W.; Valverde , F.; León, J.; Gallegos, P.; 2010. Manual del Cultivo Ecológico de la Naranjilla. Manual técnico No. 77. INIAP. Quito, Ecuador. Pag. 28-98.

RINCÓN A; Montilla E, Valverde L., 2008 “Evaluación de dieciséis (16) cultivares de mango (*Mangífera indica* L) en los llanos venezolanos”, Instituto de investigaciones agropecuarias, Universidad de los Andes, Merida-Venezuela. Consultado mayo del 2014.

RUENES-Morales M del R, A Casas, J J Jiménez-Osornio, J Caballero (2010) Etnobotánica de *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae) en la península de Yucatán. *Interciencia* 35:247-254. Ruenes-Morales M del R, A Casas, J J Jiménez-Osornio, J Caballero (2010) Etnobotánica de *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae) en la península de Yucatán. Consultado 27 de marzo del 2014

SANTACRUS María Augusta, 2004 “Phenologic and Reproductive Study of Quito’s orange (*Solanum quitoense* Lam), Peach Tomato (*Solanum sessiliflorum* Dunal) y Cape Gooseberry (*Physalis peruviana* Lam)”, Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria- Zamorano, Honduras

SANTACRUZ Viera María A., 2004, “Estudio fenológico y reproductivo de la naranjilla (*solanum quitoense lam*), cocona (*solanum sessiliflorum dunal*) y uchuva (*physalis peruviana lam*)”, Zamorano, Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria, Honduras

SCHIEBER, A., Stintzing, F.C. and Carle, R. (2001). By-products of plant food processing as a source of functional compounds-recent development. *Trends in Food Science & Technology*, 12: 401-413.

SICA. 2001. naranjilla (en línea). consultado 28 de ago. 2003. disponible en: <http://www.sica.gov.ec/agronegocios/productos%20para%20invertir/frutas/naranjilla/iica.htm>

TORRES Juan Diego , 2007 “Optimización de las condiciones de operación de tratamientos osmóticos destinados al procesado mínimo de mango (*mangifera indica* L.)”, Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Tecnología de Alimentos, Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el desarrollo, Valencia- España

TRUJILLO, D. (2008). *cultivo in vitro del mortiño (vaccinium floribundum kunth)* (tesis para optar el título de b.s. en biotecnología). universidad san francisco de quito, quito-ecuador.

ULLOA Ulloa, C., Moller Jorgensen, P. 1995. Árboles y Arbustos de los Andes del Ecuador. Quito-Ecuador. Ediciones Abya-Yala. pp. 172 – 174, 184.

USDA, United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service. *USDA National Nutrient Database for Standard Reference*, Release 18 (2006). http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl

VALVERDE F.M. 1998, “ Plantas Útiles del Litoral Ecuatoriano”, ministerio del medio ambiente/Ecorae/EcoCiencia. Guayaquil.

VAN DEN EEYNDEN, v., cueva, e. & cabrera, o. (1999). *plantas silvestres comestibles del sur del ecuador*. quito – ecuador, ediciones abya-yala. 221 pp.

ZULUETA Ana, Maria J. Esteve, Isabel Frasquet, Ana Frigola, “Vitamin C, vitamin A, phenolic compounds and total antioxidant capacity of new fruit juice and skim milk mixture beverages marketed in Spain”, Universidad de Valencia- España, Consultado, 10 junio del 2013.

ANEXOS

Anexo A-1

FICHA DE CATA									
FECHA:			SEXO:			EDAD:			
<p>DE ACUERDO A SU GRADO DE ACEPTACIÓN CALIFIQUE LAS SIGUIENTES MUESTRAS QUE SE LE PRESENTAN A CONTINUACIÓN. MARQUE CON UNA X</p>									
MUESTRA:	EXCELENTE	MUY BUENO	BUENO	REGULAR	INSUFICIENTE	TOTAL	OBSERVACIÓN		
APARIENCIA									
COLOR	5	4	3	2	1				
ASPECTO	5	4	3	2	1				
AROMA									
FRUTA	5	4	3	2	1				
INTENSIDAD	5	4	3	2	1				
SABOR									
DULZOR	5	4	3	2	1				
ACIDEZ	5	4	3	2	1				
FRUTA	5	4	3	2	1				
TEXTURA	5	4	3	2	1				
CALIFICACIÓN GENERAL	5	4	3	2	1				
GRACIAS POR SU COLABORACIÓN					PUNTUACIÓN TOTAL				

Anexo A-2

NORMA INEN 2 337:2008
JUGOS, PULPAS, CONCENTRADOS, NECTARES, BEBIDAS DE FRUTAS
Y VEGETALES. REQUISITOS.

1 OBJETO

- 1.1** Esta norma establece los requisitos que deben cumplir los jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales.

2 ALCANCE

- 2.1** Esta norma se aplica a los productos procesados que se expenden para consumo directo; no se aplica a los concentrados que son utilizados como materia prima en las industrias.

3 DEFINICIONES

- 3.1 Jugo (zumo) de fruta.-** Es el producto líquido sin fermentar pero susceptible de fermentación, obtenido por procesamiento tecnológico adecuados, conforme a prácticas correctas de fabricación; procedentes de la parte comestible de frutas en buen estado, debidamente maduras y frescas o, a partir de frutas conservadas por medio de medios físicos.
- 3.2 Pulpa (puré) de fruta.-** Es el producto carnoso y comestible de la fruta sin fermentar pero susceptible de fermentación, obtenido por procesos tecnológicos adecuados por ejemplo, entre otros: tamizando, triturando o desmenuzado, conforme a buenas prácticas de manufactura; a partir de la parte comestible y sin eliminar el jugo, de frutas entera o peladas en buen estado, debidamente maduras o, a partir de frutas conservadas por medios físicos.
- 3.3 Jugo (zumo) concentrado de fruta.-** Es el producto obtenido a partir de jugo de frutas (definido en 3.1), al que se ha eliminado un parte de agua en una cantidad suficiente para elevar los sólidos solubles (°Brix) en, al menos, un 50% que el valor °Brix establecido para el jugo de pulpa.

- 3.4 Pulpa (puré) concentrada de frutas.-** es el producto (definido en 3.2) obtenida mediante la eliminación física de parte del agua contenida en la pulpa.
- 3.5 Jugo y pulpa concentrado edulcorado.-** Es el producto definido en 3.3 y 3.4 al que se le ha adicionado edulcorantes para ser reconstituido a un néctar o bebida, el grado de concentración dependerá de los volúmenes de agua a ser adicionado para su reconstitución y que cumpla con los requisitos de la tabla 1, ó el numeral 5.4.1.
- 3.6 Néctar de frutas.-** Es el producto pulposo o no pulposo sin fermentar, pero susceptible de fermentación, obtenido de la mezcla del jugo o pulpa, concentrados o sin concentrar o la mezcla de éstos, provenientes de una o más frutas con agua e ingredientes endulzantes o no.
- 3.7 Bebidas de frutas.-** Es el producto sin fermentar, pero fermentable, obtenido de la dilución del jugo o pulpa de fruta, concentrados o sin concentrar o la mezcla de éstos, provenientes de una o más frutas con agua, ingredientes endulzantes y otros aditivos permitidos.

4 DISPOSICIONES ESPECÍFICAS

- 4.1** El jugo y la pulpa debe ser extraído bajo condiciones sanitarias apropiadas, de frutas maduras, sanas, lavadas y sanitizadas, aplicando los Principios de Buenas Prácticas de Manufactura.
- 4.2** La concentración de plaguicidas no deben superar los límites establecidos en el Codex Alimentario (Volumen 2) y el FDA (Part. 193)
- 4.3** Los principios de buenas prácticas de manufactura deben propender reducir al mínimo la presencia de fragmentos de cáscara, de semillas, de partículas gruesas o duras propias de la fruta.
- 4.4** Los productos deben estar libres de insectos o sus restos, larvas o huevos de los mismos.
- 4.5** Los productos pueden llevar en suspensión parte de la pulpa del fruto finamente dividida.
- 4.6** No se permite la adición de colorantes artificiales y aromatizantes (con excepción de lo indicado en 4.7 y 4.9), ni de otras sustancias que disminuya la calidad del producto, modifique su naturaleza o den mayor valor que el real.

- 4.7** Únicamente a las bebidas de frutas se pueden adicionar colorantes, aromatizantes, saborizantes y otros aditivos tecnológicamente necesarios para su elaboración establecidos en la NTE INEN 2 074.
- 4.8** Como acidificante podrá adicionarse jugo de limón o de lima o ambos hasta un equivalente de 3g/l como ácido cítrico anhidro.
- 4.9** Se permite la restitución de los componentes volátiles naturales, perdidos en los procesos de extracción, concentración y tratamiento térmico de conservación, con aromas naturales.
- 4.10** Se permite usar ácido ascórbico como antioxidante en límites máximos de 400 mg/kg.
- 4.11** Se puede adicionar enzimas y otros aditivos tecnológicamente necesarios para el procesamiento de los productos, aprobado en la NTE INEN 2 074, Codex Alimentario, o FDA o en otras disposiciones legales vigentes.
- 4.12** Se permite la adición de edulcorantes aprobados por la NTE INEN 2 074, Codex Alimentario, y FDA o en otras disposiciones legales vigentes.
- 4.13** Solo a los néctares de frutas se puede añadirse miel de abeja y/o azúcares derivados de frutas.
- 4.14** Se pueden adicionar vitaminas y minerales de acuerdo con lo establecido en la NTE INEN 1 334-2 y en las otras disposiciones legales vigentes.
- 4.15** La conservación de los productos por medios físicos pueden realizarse por procesos térmicos: pasteurización, esterilización, refrigeración, congelación y otros métodos adecuados para ese fin; se excluye la radiación ionizante.
- 4.16** La conservación de los productos por medios químicos pueden realizarse mediante la adición de las sustancias indicadas en la tabla 15 de la NTE INEN 2 074.
- 4.17** Los productos conservados por medios químicos deben ser sometidos a procesos térmicos.
- 4.18** Se permite la mezcla de uno o más variedades de frutas, para elaborar estos productos y el contenido de sólidos solubles (°Brix), será ponderado al aporte de cada fruta presente.
- 4.19** Pueden añadirse jugo de la mandarina *Citrus reticulada* y/o híbridos al jugo de naranja en una cantidad que no exceda del 10% de sólidos solubles respecto del total de sólidos solubles del jugo de naranja.

- 4.20** Pueden añadirse jugo de limón (*Citrus limón* (L.) Burm. f. *Citrus limonum* Rissa) o jugo de lima (*Citrus aurantifolia* (Christm.)), o ambos, al jugo de fruta hasta 3 g/l de equivalente de ácido cítrico anhidro para fines de acidificación a jugos no endulzados.
- 4.21** Pueden añadirse jugo de limón o jugo de lima, o ambos, hasta 5g/l de equivalente de ácido cítrico anhidro a néctares de frutas.
- 4.22** Pueden añadirse al jugo de tomate (*lycopersicum esculentum* L) sal y especias así como hierbas aromáticas (y sus extractos naturales).
- 4.23** Se permite la adición de dióxido de carbono, mayor a 2g/kg, para que al producto se lo considere como gasificado.
- 4.24** A las bebidas de frutas cuando se les adicione gas carbónico se las considerará bebidas gaseosas y deberán cumplir los requisitos de la NTE INEN 1 101.

5 REQUISITOS

1.1 Requisitos específicos para los jugos y pulpas de frutas

- 1.1.1** El jugo puede ser turbio, claro o clarificado y debe tener las características sensoriales propias de la fruta de la cual procede.
- 1.1.2** La pulpa debe tener las características sensoriales propias de la cual procede.
- 1.1.3** El jugo y la pulpa debe estar exento de olores o sabores extraños u objetables.
- 1.1.4** *Requisitos físicos-químicos*
- 1.1.4.1** Los jugos y las pulpas ensayados de acuerdo a la norma técnica ecuatoriana correspondiente, deben cumplir con las especificaciones establecidas en la tabla 1.

Tabla 1. Especificaciones para los jugos o pulpas de frutas.

FRUTA	Nombre Botánico	Sólidos Solubles ^{a)} Mínimo NTE INEN 380
Acerola	<i>Malpighia sp</i>	6,0
Albaricoque (Damasco)	<i>Prunus armeniaca L.</i>	11,5
Arándano (mirtilo)	<i>Vaccinium myrtillus L.</i> <i>Vaccinium corymbosum L.</i> <i>Vaccinium angustifolium</i>	10,0
Arazá	<i>Eugenia stipitata</i>	4,8
Babaco	<i>Carica pentagona Heilb</i>	5,0
Banano	<i>Musa, spp</i>	21,0
Borojo	<i>Borojoa spp</i>	7,0
Carambola (Grosella china)	<i>Averrhoa carambola</i>	5,0
Claudia ciruela	<i>Prunus domestica L.</i>	12,0
Coco 1	<i>Cocos nucifera L.</i>	5,0
Coco 2	<i>Cocos nucifera L.</i>	4,0
Durazno (Melocotón)	<i>Prunus pérsica L.</i>	9,0
Frutilla	<i>Fragaria spp</i>	6,0
Frambuesa roja	<i>Rubus ideus L.</i>	7,0
Frambuesa negra	<i>Rubus occidentalis L.</i>	11,0
Guanábana	<i>Anona muricata L.</i>	11,0
Guayaba	<i>Psidium guajava L.</i>	5,0
Kiwi	<i>Actinidia deliciosa</i>	8,0
Litchi	<i>Litchi chinensis</i>	11,0
Lima	<i>Citrus aurantifolia</i>	4,5
Limón	<i>Citrus limón L.</i>	4,5
Mandarina	<i>Citrus reticulada</i>	10,0
Mango	<i>Mangifera indica L.</i>	11,0
Manzana	<i>Malus domestica Borkh</i>	6,0
Maracuyá (Parchita)	<i>Passiflora edulis Sims</i>	12,0
Marañón	<i>Anacardium occidentale L.</i>	11,5

Melón	<i>Cucumis melo L.</i>	5,0
Mora	<i>Rubus spp.</i>	6,0
Naranja	<i>Citrus sinnensis</i>	9,0
Naranjilla (Lulo)	<i>Solanum quitoense</i>	6,0
Papaya (Lechosa)	<i>Carica papaya</i>	8,0
Pera	<i>Pyrus communis L.</i>	10,0
Piña	<i>Ananas comosus L.</i>	10,0
Sandia	<i>Citrullus lanatus Thunb</i>	6,0
Tamarindo	<i>Tamarindus indica L.</i>	18,0*
Tomate de árbol	<i>Cyphomandra betacea</i>	8,0
Tomate	<i>Lycopersicum esculentum L.</i>	4,5
Toronja (Pomelo)	<i>Citrus paradisi</i>	8,0
Uva	<i>Vitis spp</i>	11,0

^{a)} En grados °Brix a 20 °C (con exclusión de azúcar).

(1) Este producto se conoce como “agua de coco” el cual se extrae directamente del fruto sin exprimir la pulpa.

(2) Es la emulsión extraída del endospermo (almendra), madura del coco, con o sin adición de agua de coco.

* Para extraer el jugo de tamarindo debe hacérselo en extracción acuosa, lo cual baja el contenido de sólidos solubles desde 60 °Brix, que es su °Brix natural, hasta los 18 °Brix en el extracto.

NOTA 1. Para las frutas que no se encuentren en la tabla el mínimo será el °Brix del jugo o pulpa obtenido directamente de la fruta.

Requisitos específicos para las bebidas de frutas

1.1.5 En las bebidas el aporte de fruta no podrá ser inferior al 10% m/m, con excepción del aporte de las frutas de alta acidez (acidez superior al 1,00 mg/100 cm³ expresado como ácido cítrico anhidro) que tendrán un aporte mínimo del 5% m/m.

1.1.6 El pH será inferior a 4,5 (determinado según NTE INEN 389).

1.1.7 Los grados °Brix serán proporcionales al aporte de fruta, con exclusión de la azúcar añadida.

1.2 Requisitos complementarios

- 1.2.1** El espacio libre tendrá como valor máximo el 10 % del volumen total del envase (ver NTE INEN 394).
- 1.2.2** El vacío referido a la presión atmosférica normal, medido a 20 °C, no debe ser menor de 320 hPa (250 mmHg) en los envase de vidrio, ni menor de 160 hPa (125 mmHg) en los envase metálicos. (ver NTE INEN 392).

2. INSPECCIÓN

- 2.1 Muestreo.-** El muestreo debe realizarse de acuerdo a la NTE INEN 378.
- 2.2 Aceptación o rechazo.-** Se aceptan los productos si cumplen con los requisitos establecidos en esta norma, caso contrario se rechaza.

3. ENVASADO Y EMBALADO

- 3.1** El material de envasado debe ser resistente a la acción del producto y no debe alterar las características del mismo.
- 3.2** Los productos se deben envasar en recipientes que no alteren su integridad e higiene durante el almacenamiento, transporte y expendio.

4. ROTULADO

- 4.1** El rotulado debe cumplir con los requisitos establecidos en la NTE INEN 1 334-1 y 1 334-2, y en otras disposiciones legales vigentes.
- 4.2** En el rotulado debe estar claramente indicado la forma de reconstituir el producto.

No debe tener leyendas de significados ambiguos, no descripciones de características del producto que no puedan ser comprobados