



**Universidad del Azuay**  
**Facultad de Ciencia y Tecnología**  
**Escuela de Ingeniería en Alimentos**

**“Variación del potencial antioxidante durante la maduración de  
uvilla (*Physalis peruviana* L) y su estabilidad frente a tratamientos  
térmicos. ``**

**Trabajo de graduación a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos**

**Autor:**

**Oscar Bernardo Choco Matute**

**Directora:**

**María Elena Cazar Ramírez**

**Cuenca-Ecuador**

**2014**

**DEDICATORIA:**

*Quiero dedicar este trabajo a Dios, y a mis padres por su apoyo, por su comprensión, por ser un ejemplo día a día de superación de vida.*

## AGRADECIMIENTOS

*Quiero agradecer principalmente a la Dra. María Elena Cazar ,ya que es un ejemplo de sabiduría, por depositar en mi su confianza, su tiempo y por su dirección a lo largo de este proyecto.*

*De igual manera mis más sinceros agradecimientos al Ing. Fausto Parra y a la Dra. Diana Chalco por sus conocimientos prestados, durante toda mi carrera de estudios*

*A mis padres, ya que sin su apoyo, sus palabras y su tenacidad no habría podido culminar esta etapa de mi vida.*

*Finalmente agradezco a Dios por darme la vida necesaria y el alumbramiento decisivo para culminar este proyecto.*

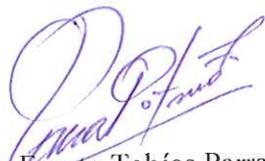
**“VARIACIÓN DEL POTENCIAL ANTIOXIDANTE DURANTE LA  
MADURACIÓN DE UVILLA (*PHYSALIS PERUVIANA L.*) Y SU  
ESTABILIDAD FRENTE A TRATAMIENTOS TÉRMICOS.”**

**RESUMEN**

El presente proyecto de investigación se planteó como objetivo evaluar el potencial antioxidante de la uvilla, *Physalis peruviana L.*, mediante el ensayo de atrapamiento del radical libre estable 2,2-difenil-1-picrihidracilo, DPPH. Además, se evaluó el contenido total de compuestos fenólicos mediante el método de Folin-Ciocalteu, así como también se estudiaron las variaciones de la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos en diferentes estados de maduración y en productos alimenticios desarrollados con el fruto en estudio.

Los resultados obtenidos permiten valorar el potencial de este fruto por su actividad antioxidante y por la estabilidad de los compuestos responsables de esta actividad en tratamientos térmicos.

Palabras clave: Potencial antioxidante, radical libre, compuestos fenólicos, Folin-Ciocalteu, estabilidad, tratamientos térmicos.



Ing. Fausto Tobías Parra Parra  
DIRECTOR DE LA ESCUELA DE  
INGENIERÍA EN ALIMENTOS



Dra. María Elena Cazar Ramírez  
DIRECTORA DEL TRABAJO  
DE GRADUACIÓN



Oscar Bernardo Choco Matute  
AUTOR DEL TRABAJO DE GRADUACIÓN

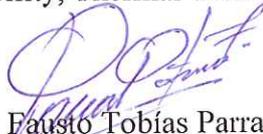
## ABSTRACT

### “CHANGES IN THE ANTIOXIDANT POTENTIAL DURING GOLDENBERRY FRUIT (*PHYSALIS PERUVIANA L.*) RIPENING AND ITS STABILITY IN HEAT TREATMENT”

This research project was aimed to evaluate the antioxidant potential of the golden berry *Physalis peruviana L.*, by means of 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl stable DPPH free radical entrapment testing. Furthermore, the total content of phenolic compounds was assessed by the Folin-Ciocalteu method. The variations of the antioxidant activity and the content of phenolic compounds in various stages of ripeness as well as in food products made with golden berry fruit were also studied.

The results obtained allow assessing the potential of this fruit due to its antioxidant activity and stability of the compounds responsible for this activity in thermal treatment.

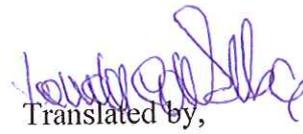
**Keywords:** Antioxidant Potential, Free Radical, Phenolic Compounds, Folin-Ciocalteu, Stability, Thermal Treatments

  
Ing. Fausto Tobías Parra Parra  
FOOD ENGINEERING  
SCHOOL DIRECTOR

  
Dra. María Elena Cazar Ramírez  
THESIS DIRECTOR

  
Oscar Bernardo Choco Matute  
AUTHOR



  
Translated by,  
Lic. Lourdes Crespo

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1

### **CAPÍTULO I: DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LA ESPECIE EN ESTUDIO**

1.1 <i>Physalis peruviana</i> : características botánicas.....	4
1.1.1 Aplicaciones de los productos derivados de uvilla.....	5
1.2 Compuestos antioxidantes.....	6
1.3 Compuestos fenólicos.....	7
1.4 Estabilidad de los antioxidantes frente a tratamientos térmicos.....	8

### **CAPÍTULO II: DESARROLLO EXPERIMENTAL DEL PROYECTO**

Introducción.....	10
2.1 Obtención de material vegetal.....	10
2.2 Preparación de la materia prima.....	11
2.2.1 Obtención de extracto acuosos.....	11

2.3 Evaluación de la actividad antioxidante por el método de DPPH.....	12
2.3.1 Fundamento de la técnica de atrapamiento del radical DPPH.....	12
2.3.2 Materiales y reactivos.....	13
2.3.3 Procedimiento.....	14
2.4 Cuantificación de fenoles totales por el método de Folin- Ciocalteu.....	15
2.4.1 Fundamento de la técnica de cuantificación de fenoles totales.....	15
2.4.2 Materiales y reactivos.....	15
2.4.3 Procedimiento.....	16
2.4.4 Curva de calibración con sustancia de referencia (Ácido gálico) .....	17
2.5 Elaboración de productos alimenticios.....	18
2.5.1 Mermelada de uvilla.....	19
2.5.1.1 Descripción del proceso.....	20
2.5.2 Concentrado de uvilla.....	23
2.5.2.1 Descripción del proceso.....	23
2.5.3 Jugo de uvilla.....	25
2.5.3.1 Descripción del proceso.....	27

### **CAPÍTULO III: RESULTADOS.**

Introducción.....	30
3.1 Evaluación del grado de madurez de frutos de <i>P. peruviana</i> .....	30
3.2 Evaluación de la actividad antioxidante por el método de DPPH.....	31
3.3 Cuantificación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu.....	34
3.3.1 Desarrollo de la curva de calibración con sustancia de referencia (Ácido gálico).....	34

3.3.2 Cuantificación de fenoles totales en las muestras de frutos y productos elaborados de <i>P. peruviana</i> .....	35
3.4 Variación del contenido de fenoles totales en función al estado de madurez de la fruta y los tratamientos térmicos para la elaboración de productos alimenticios.....	36
 <b>CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN</b>	
Introducción.....	38
4.1 Discusión.....	38
 <b>CONCLUSIONES.....</b>	
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>41</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>42</b>
 <b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	
<b>ANEXOS.....</b>	<b>43</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>47</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla No1:	Materiales y reactivos para ensayo de DPPH	11
Tabla No2:	Materiales y reactivos empleados para cuantificación de fenoles totales por método de Folin-Ciocalteu	14
Tabla No3:	Relación de pH y cantidad de ácido cítrico a añadir	18
Tabla No4:	Características de la producción de la mermelada De uvilla.	20
Tabla No5:	Datos recolectados de la producción de Jugo de uvilla	26
Tabla No 6	Datos recolectados de Brix, y rangos obtenidos de manera estadística.	28
Tabla No7.	Se presentan los resultados de la evaluación de la capacidad atrapadora del radical DPPH de la fruta en estudio a diferentes grados madurez.	29
Tabla No8:	Se presentan los resultados de la evaluación de la capacidad atrapadora del radical DPPH en los productos elaborados a partir de la fruta en estudio	30
Tabla No 9	Cuantificación de fenoles totales en las muestras de frutos y productos elaborados de P. peruviana	33
Tabla No10	Tabla de datos del análisis de frutos y productos de uvilla para la elaboración de la curva para comparar, los cambios producidos.	34

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	<i>Physalis peruviana</i> , planta y frutos.	2
Figura 2	Productos alimenticios derivados de <i>P. peruviana</i>	4
Figura 3	Centro de acopio de frutas. Coopera.	8
Figura 4	Diferentes tipos de madurez de la uvilla basada en % Brix	9
Figura 5	Extractos Acuosa de <i>Physalis peruviana L</i>	10
Figura 6	Diluciones de los extractos acuosa de la fruta en estudio. Diluciones en concentraciones de 250, 150, 125, 75 y 50.	13
Figura 7	µg/mL de ácido Gálico	15
Figura 8	<i>Diagrama de flujo para la preparación de mermelada</i>	17
Figura 9	Producción de mermelada.	20
Figura 10	Diagrama de flujo para la Concentrado de uvilla.	21
Figura 11	Muestra de Concentrado de uvilla	23
Figura 12	Diagrama de flujo para la elaboración de jugo de uvilla.	24
Figura 13	Muestra de jugo de uvilla.	26
Figura 14	Fases del análisis de los productos.	27
Figura 15	Variación de IC <sub>50</sub> de atrapamiento del radical DPPH En la uvilla en sus diferentes grados de madurez, y Sus cambios en los productos realizados	31
Figura 16	Curva de Calibración de Acido Gálico	32
Figura 17	Variación del contenido de compuestos fenólicos <i>Expresados como mg/ml de ácido gálico</i>	35

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A-1	NORMA INEN 419:1988-05	
	CONSERVAS VEGETALES MERMELADA DE	
	FRUTAS REQUISITOS	45
	NORMA INEN 2 337:2008	
Anexo A-2	JUGOS, PULPAS, CONCENTRADOS, NECTARES	
	BEBIDAS DE FRUTAS Y VEGETALES. REQUISITOS.	
		52

Oscar Bernardo Choco Matute

Trabajo de Graduación

Cazar Ramírez María Elena

Julio de 2014

**“VARIACIÓN DEL POTENCIAL ANTIOXIDANTE DURANTE LA  
MADURACIÓN DE UVILLA (*PHYSALIS PERUVIANA* L) Y SU  
ESTABILIDAD FRENTE A TRATAMIENTOS TÉRMICOS”**

**INTRODUCCIÓN**

**Introducción.**

La Uvilla (*Physalis peruviana* L.) es una planta nativa de la región andina de Sudamérica. Su fruto trasciende la historia de los períodos Pre-incásico e Incásico. Esta planta se ha mantenido sin cambios aparentes en la estructura de su germoplasma. El centro de origen se localiza en la región sudamericana que incluye los Andes Ecuatorianos (Puente,. et al., 2012).

La fruta a pesar de su sabor agridulce es apetecida por su alto contenido de vitaminas A y C, lo que constituye una fuente nutricional para el consumo humano y medicinal principalmente, la uvilla posee un elevado contenido en hidratos de carbono que se aprovecha de mejor manera si se consume en estado fresco y puede ser utilizada por la agroindustria para la elaboración de productos como: mermelada, dulces, salsas y cremas.

En nuestro país este fruto ha captado el interés del sector agrícola por su potencial como producto de exportación y consumo interno. No obstante, la industrialización de *P. peruviana* puede potenciarse al conocer el comportamiento del fruto en sus diferentes estados de maduración. El presente trabajo propone una investigación

enmarcada en la caracterización del potencial antioxidante de este fruto andino, en relación a su proceso de maduración.

**OBJETIVO GENERAL:**

Evaluar la actividad antioxidante, en relación a las etapas de maduración de la uvilla (*Physalis peruviana L.*).

**OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Evaluar la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos de los extractos de la planta en estudio.
- Establecer la relación de la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos, en relación al grado de maduración del fruto de uvilla.
- Determinar las condiciones óptimas de los parámetros antioxidantes en función del grado de maduración.
- Desarrollar propuesta en la elaboración de alimentos, usando como materia prima el fruto de *Physalis peruviana*.

## CAPÍTULO I

### GENERALIDADES

#### 1.1 *Physalis peruviana*: características botánicas.

El nombre botánico de esta planta es *P. peruviana* Linnaeus, perteneciente a la familia Solanaceae y al género *Physalis*, con más de ochenta variedades que pueden encontrarse en forma silvestre. Este fruto es también conocido como uchuva en Colombia, uvilla en Ecuador, aguaymanto en Perú, topotopo en Venezuela y en países angloparlantes se la conoce como *goldenberry*. (Puente.,et al., 2012).

El tallo es herbáceo cubierto de vellosidades suaves de color enteramente verdes, las hojas son simples, enteras y acorazonadas, se las considera cordiformes, dispuestas en forma alterna en la planta, el limbo es entero y presenta vellosidades que lo hacen suave al tacto. La corola de la flor es circular (20 mm de diámetro) hermafrodita solitaria y pedunculada., con cinco pequeños picos. El cáliz de la flor llega a un tamaño de 5 cm de largo, es acreciente como un farol colgante y encierra al pequeño fruto que es una baya de 8 a 20 mm de diámetro. El cáliz se mantiene verde hasta madurar la fruta, luego se vuelve pardo traslúcido y el fruto se pone amarillo. (Brito, 2002)

**Figura 1.** *Physalis peruviana*, planta y frutos



Fuente: Autor.

### 1.1.1 Aplicaciones de los productos derivados de uvilla.

Esta planta herbácea, considerada como maleza, no ha tenido ninguna relevancia en la industria de alimentos local. Desde los años ochenta hasta la presente fecha, el fruto de la uvilla empieza a tener importancia comercial por sus características de aroma y sabor dulce, en los mercados nacionales y extranjeros como Canadá, Alemania y otros. Actualmente existen plantaciones comerciales con fines de exportación en Ecuador, Colombia, Chile y Sudáfrica principalmente. Su área ecológica en el Ecuador, se encuentra en las provincias de Cotopaxi, Tungurahua, Imbabura y Carchi. (BCE-SIM Elaboración: CICO-CORPEI, 2009.)

En países vecinos la uvilla se ha constituido en un cultivo de exportación. En Perú es el segundo fruto de exportación después del banano, por su alto contenido en beta carotenos y ácido ascórbico. Por su alto contenido en provitamina A, (entre 1000 y 5000 UI) la uvilla pertenece a los frutos carotenogénicos, los cuales durante su maduración se colorean gradualmente hacia amarillo, naranja o rojo (Fischer, 1999).

La uvilla es ampliamente utilizada en el tratamiento de enfermedades como malaria, asma, hepatitis, dermatitis, reumatismo y como diurético. Su gran contenido de flavonoides y compuestos polifenólicos la hacen poseedora de propiedades antiinflamatorias y antioxidantes (Wu, et al., 2005).

Dado que al momento el fruto de *P. peruviana* se comercializa en fresco, es una alternativa deseable para aquellas frutas que no cumplen los parámetros de selección como fruto de exportación, el ser materia prima para el desarrollo de productos alimenticios. Se puede mezclar frutas sanas con pequeñas, rajadas o deformes. En Colombia, solamente las uvillas cosechadas con rajado alcanzan el 19% en promedio de la producción total (Fischer, et al., 2005)

El contenido de sólidos solubles en la uvilla alcanza alrededor de los 14° Brix. La acidez titulable de la uvilla es elevada. Este fruto posee un contenido promedio entre

1,3 y 1,8%, expresado en ácido cítrico. Además, la uvilla tiene un contenido de pectina intermedio respecto a las frutas más comunes. (Fischer, et al., 2005)

Entre los derivados que comienzan a encontrarse en los mercados de cadena están las pulpas, varios tipos de bebidas y productos azucarados y deshidratados. Ya se consiguen pulpas con y sin semilla conservadas mediante diferentes técnicas que emplean el frío o el calor como principios estabilizantes. De los productos azucarados se encuentran las uvillas en jarabe, salsas y compotas. Entre los concentrados se hallan las mermeladas, bocadillos y dulces. Con relación a los deshidratados, hay los tipos “pasabocas” simples y los recubiertos con chocolate. (Fischer, et al., 2005)

**Figura 2:** Productos alimenticios derivados de *P. peruviana*



**Fuente:** [www.gloria.com.pe](http://www.gloria.com.pe)

## 1.2 Compuestos antioxidantes.

Los antioxidantes son compuestos que pueden retrasar o impedir la oxidación de los lípidos, ácidos nucleicos, o de otras moléculas, inhibiendo la propagación de las

reacciones en cadena 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 o medicamentos, ya que los sintéticos están siendo restringidos debido a su potencial efecto contra la salud humana. Los antioxidantes naturales están presentes en todas partes de las plantas e incluso en carotenoides, algunas vitaminas, fenoles, flavonoides, el glutatión y otros metabolitos endógenos. La mayor parte de la capacidad antioxidante de frutas y vegetales se la proporciona su contenido en vitamina E, C y carotenos, así como los diferentes polifenoles (SCHIEBER., 2001).

Los antioxidantes también pueden ser enzimas que aumentan la velocidad de ruptura de los radicales libres. Los radicales libres han sido reconocidos como la causa fundamental de diferentes tipos de enfermedades, incluido el envejecimiento, enfermedades coronarias, diabetes mellitus, reumatismo, desórdenes del hígado, falla renal y cáncer. Las especies reactivas de oxígeno (ROS) incluyen radicales libres como el anión superóxido ( $O_2^-$ ), radical hidroxil ( $OH^\cdot$ ), peróxido de hidrógeno  $H_2O_2$  y oxígeno singlete ( $^1O_2$ ). Estas entidades químicas pueden causar daño celular e incluso iniciar la peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados en membranas biológicas. El efecto de los ROS a nivel celular incluye daño de ADN, proteínas y oxidación de enzimas (Wu, et al., 2005).

### **1.3 Compuestos fenólicos.**

Son compuestos químicos que se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas. Los tres grupos más importantes son los flavonoides, los ácidos fenólicos y los polifenoles. Los compuestos fenólicos son antioxidantes y pueden contribuir a prevenir algunas enfermedades. Las principales fuentes de estos compuestos son el té, las aceitunas, las manzanas, el vino tinto, entre otras.

El término compuesto fenólico abarca una amplia variedad de sustancias vegetales que poseen en común un anillo aromático teniendo uno o más grupos hidroxilo. Las sustancias fenólicas tienden a ser solubles en agua, ya que más frecuentemente se producen junto con el azúcar como los glucósidos y normalmente se encuentra en la vacuola de la célula.

Entre los compuestos fenólicos naturales, de los cuales varios miles de estructuras se conocen, los flavonoides forman el grupo más grande pero también, simples fenoles monocíclicos, fenilpropanoides y quinonas fenólicos todos existen en número considerable. Varios grupos importantes de materiales poliméricos en las plantas como: las melaninas, ligninas y taninos son polifenoles y ocasionales unidades fenólicas; se encuentran en las proteínas, alcaloides y en los terpenoides (Harborne,.1998).

#### **1.4 Estabilidad de los antioxidantes frente a tratamientos térmicos.**

Los antioxidantes son utilizados para incrementar el proceso de inducción de la oxidación o disminuir la tasa de oxidación. El mecanismo de acción de los antioxidantes ha sido ampliamente estudiado y estos pueden ser clasificados funcionalmente como antioxidantes primarios, biológicos o mixtos; sinergistas, removedores de oxígeno o quelantes. Los antioxidantes primarios promueven la remoción o inactivación de radicales libres en los estados de iniciación y propagación de la oxidación, donando átomos de hidrógeno para interrumpir la reacción en cadena. Los sinergistas tienen poca o ninguna actividad antioxidante *per se*, pero pueden incrementar la actividad de antioxidantes primarios, usados en la combinación apropiada. (Yettella,,et al., 2011).

En la industria se utilizan comúnmente antioxidantes sintéticos, siendo los más usuales el Butil Hidroxi Anisol (BHA), Butil Hidroxi Tolueno (BHT), Tert-Butil Hidro Quinona (TBHQ) y Propil Galato (PG). Entre los antioxidantes naturales más utilizados se encuentran los tocoferoles y ácidos fenólicos. Las sales de ácido cítrico y etilendiaminotetracético (EDTA) son los agentes quelantes más utilizados (Santos.,et al 2012).

En fuentes de antioxidantes naturales, como frutas y verduras, el contenido de compuestos fenólicos, asociado directamente a esta propiedad varía considerablemente al desarrollar alimentos procesados. Las pulpas comerciales de frutos con propiedades antioxidantes registran variaciones en su actividad antioxidante, dependiendo de los métodos de procesamiento, la proporción pulpa: agua, la calidad de fruta y el grado de maduración (Pacheco-Palencia, et al., 2009).

La cuantificación y caracterización de compuestos fenólicos, asociada a estudios de estabilidad térmica, permite inferir los cambios generados por la temperatura en

moléculas antioxidantes y su mecanismo de acción. ( Santos *et al.*, (2012) estudiaron la estabilidad de ácidos fenólicos naturales y determinaron que la estabilidad térmica disminuye en el siguiente orden: ácido caféico > ácido ferúlico > ácido gálico. Los ácidos fenólicos son antioxidantes eficientes, actúan como atrapadores de radicales libres y eventualmente como quelantes de metales, interfiriendo en el estado de iniciación y propagación oxidativa. Este estudio demuestra que la actividad antioxidante de estos compuestos se debe a sus grupos catecol y carboxilato, los cuales ofrecen dos sitios potenciales para quelación.

En este contexto, el procesamiento térmico de alimentos puede generar formas químicas asociadas a los mecanismos de actividad antioxidante, generando alimentos funcionales con propiedades beneficiosas para la salud de los consumidores.

## CAPÍTULO II: METODOLOGÍA

### Introducción:

En este capítulo se presenta en detalle la metodología utilizada para establecer la variación del potencial antioxidante en función a los grados de madurez de *P. peruviana*. Además se describe el desarrollo de los productos alimenticios a partir de frutos de uvilla.

### 2.1 Obtención de material vegetal.

La materia prima fue adquirida en el Centro de acopio Cooperera Ltda, donde se recoge la producción de agricultores de Bulan, Azuay. El grado de madurez del fruto sin capuchón se estableció midiendo los grados Brix.

**Figura 3.** Centro de acopio de frutas. Cooperera.



**Fuente Autor.**

## 2.2 Preparación de la materia prima

Previo al procesamiento, la materia prima fue seleccionada mediante el análisis de Grados Brix, además se han separado frutos con muestras visibles de contaminación fúngica y daños mecánicos por transporte. La fruta recolectada y clasificada en función de su grado de madurez, para esto se midió el grado Brix de la fruta, para obtener datos posibles de trabajar, los cuales fueron tomados y clasificados de tal manera que se puedan dividir en rangos los cuales ayudan al análisis. Se formaron 3 grupos

Grado 1: 8,1-10,57 Bx

Grado 2: 10,57-13,04 Bx

Grado 3: 13,04-15,51 Bx

**Figura 4.** Diferentes tipos de madurez de la uvilla basada en % Brix.



**Fuente:** Autor

### 2.2.1 Obtención de extractos acuosos.

Se prepararon extractos acuosos a partir del fruto en estudio con el fin de desarrollar las pruebas de captura del radical libre DPPH y cuantificación de fenoles por el método de Folin Ciocalteau. A continuación se describe el procedimiento seguido para la obtención de los extractos.

50 gramos de fruto fresco fueron pesados y mezclados con 100 mL de agua (proporción 1:2). La mezcla fue licuada y centrifugada a 3000 rpm por cinco minutos. El sobrenadante fue recolectado y almacenado en tubos eppendorf de 1,5 mL. Los tubos con el sobrenadante se mantuvieron en congelación (-8°C) y oscuridad hasta el desarrollo de los bioensayos.

**Figura 5.** Extractos Acuosa de *Physalis peruviana L*



Fuente: Autor

## **2.3 Evaluación de la actividad antioxidante por el método de DPPH**

### **2.3.1 Fundamento de la técnica de atrapamiento del radical 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.

Al mezclarse una solución de DPPH con una sustancia capaz de donar un átomo de hidrógeno, la molécula pasa a la forma reducida, perdiendo su color violeta y tomando un color naranja pálido (Molyneux, 2004).

Los diferentes extractos son medidos en términos de donación de hidrógeno o según la actividad atrapadora del radical estable DPPH, 0,75mL de una solución metanólica del extracto a diferentes concentraciones que son mezcladas con 1.5 mL de una solución metanólica de DPPH (20mg/L) (Parejo., et al . 2003).

La absorbancia es medida a 517nm luego de 20 minutos de reacción. El porcentaje de decoloración de DPPH de la muestra es calculado con la siguiente ecuación:

$$\% \text{Decoloración DPPH} = \left( 1 - \frac{A_m - A_{bm}}{A_{DPPH}} \right) * 100$$

Donde  $A_m$  es la absorbancia de la mezcla de reacción (DPPH + muestra),  $A_{bm}$  la del blanco de muestra (muestra + agua) y  $A_{DPPH}$  la absorbancia de la solución de DPPH. (Martinez A, Echavarría B.; Franco A.; 2009)

### 2.3.2 Materiales y reactivos

Para la determinación de la actividad atrapadora del radical libre DPPH se utilizaron los siguientes materiales y reactivos.

**Tabla No1:** Materiales y reactivos para ensayo de DPPH

Materiales	Reactivos
Balanza analítica Tubos Falcon de 15 y 50 mL <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pipetas automáticas de: 5 mL, 1000µL y 100µL</li> <li>• Puntas desechables</li> <li>• Gradilla</li> <li>• Espectrofotómetro</li> <li>• Celdas de cuarzo</li> <li>• Píseta</li> <li>• Papel absorbente</li> <li>• Balón de aforo ámbar de 100 mL</li> </ul>	DPPH (2,2-Difenil-1-picrihidrazilo) Etanol

Fuente: Autor

### 2.3.3 Procedimiento

1. Preparar diluciones en etanol a partir de los extractos acuosos preparados según lo descrito en 2.2.1 y aforar a 2 mL. Obtener diluciones con concentración de 500, 250, 125, 75, 50 y 25  $\mu\text{L}/\text{mL}$ .

Las diluciones fueron realizadas mediante la siguiente fórmula.

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

$$V_1 = \frac{V_2 \times C_2}{C_1}$$

Donde,

$V_1$  = volumen que se debe obtener del extracto (?)

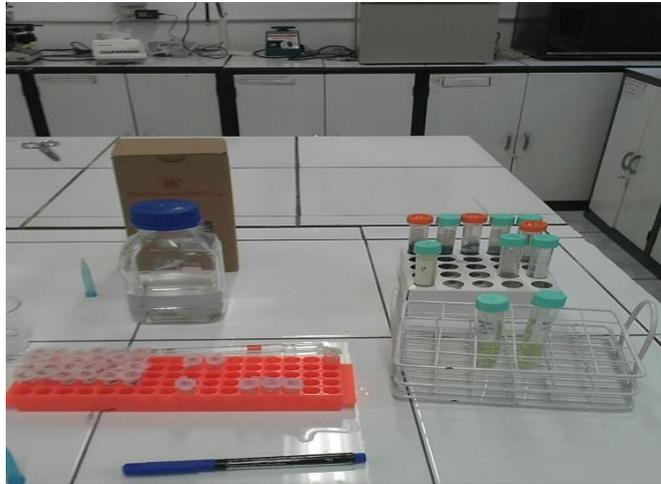
$C_1$  = Concentración del extracto (500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

$V_2$  = volumen de aforo (2mL)

$C_2$  = Concentración requerida (500,250,125,75,50 y 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

2. Preparar una solución etanólica de DPPH (20 mg/L), la cual debe preservarse de la luz solar en un balón ámbar.
3. En los tubos Falcon de 15 mL colocar 0,5 mL de cada dilución y 1,5mL de la solución de DPPH. Rotular los tubos y agitar.
4. Incubar los tubos en la oscuridad por un lapso de 20 minutos para que proceda la reacción de decoloración.
5. Medir la absorbancia de las diluciones en espectrofotómetro ( $\lambda = 517 \text{ nm}$ ).

**Figura 6.** Diluciones de los extractos acuosos de la fruta en estudio.



Fuente: Autor

## **2.4 Cuantificación de Fenoles Totales por el método de Folin-Ciocalteu**

### **2.4.1 Fundamento de la técnica de cuantificación de fenoles totales**

La sumatoria de fenoles totales en extractos se puede determinar por el método Folin-Ciocalteu. Se realiza por duplicado y primero se toman 200 $\mu$ L de muestra y se introduce en tubos de prueba, se toma 1ml del reactivo Folin-Ciocalteu y 0.8ml de carbonato de sodio al 7.5% y se introducen en el mismo tubo y se mezclan por 30 minutos. Luego se mide la absorbancia en un espectrofotómetro a 765nm, finalmente el contenido de fenoles totales es expresado en miligramos de ácido gálico por gramos de material seco. (Marja P, et al , 1999)

### **2.4.2 Materiales y reactivos**

Para la cuantificación de los fenoles totales es necesario realizar una curva de calibración teniendo como sustancia de referencia el ácido gálico. Los resultados serán expresados en mg de ácido gálico.

**Tabla No2:** Materiales y reactivos empleados para cuantificación de fenoles totales por método de Folin-Ciocalteu.

<b>Materiales</b>	<b>Reactivos</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Balanza analítica</li> <li>• Tubos de 15 mL</li> <li>• Pipetas automáticas de: 5 mL, 1000<math>\mu</math>L y 100<math>\mu</math>L</li> <li>• Puntas desechables</li> <li>• Gradilla</li> <li>• Espectrofotómetro</li> <li>• Celdas de cuarzo</li> <li>• Piseta</li> <li>• Papel absorbente</li> <li>• Balón de aforo de 100 y 50 mL</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reactivo de Folin-Ciocalteu</li> <li>• Carbonato de sodio al 7,5%</li> <li>• Ácido gálico</li> <li>• Agua destilada</li> </ul>

**Fuente:** Autor

### 2.4.3 Procedimiento

1. Colocar en tubos de 15 mL, 1 mL de carbonato de sodio al 7,5%.
2. Agregar 500  $\mu$ L del extracto orgánico que se va a analizar.
3. Agregar 8 mL de agua destilada.
4. Agregar 0,5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu.
5. Dejar reposar por 30 minutos en la oscuridad.

- Realizar las lecturas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 765 nm.

#### 2.4.4 Curva de calibración con sustancia de referencia (Ácido gálico)

Para el desarrollo de la curva de calibración se preparó una solución madre de 500  $\mu\text{g/mL}$ . A partir de esta solución se preparó diluciones en concentraciones de 250, 150, 125, 75 y 50  $\mu\text{g/mL}$ . Se realizó la cuantificación de fenoles totales en estas soluciones, de acuerdo a la metodología. Luego de haber obtenido los volúmenes para cada concentración se procede medir los ml necesarios de la solución madre de ácido gálico y colocar en los balones de aforo de 50 mL y posteriormente se afora con agua destilada.

Para preparar una solución madre de ácido gálico de 1000  $\mu\text{g/mL}$ . Se preparó 100 ml de dicha solución por lo que se pesó 1 gr de ácido gálico y se aforó a 100 ml en un balón de aforo de 100 ml.

Se preparó 100 mL de dicha solución por lo que se pesó 7,989 gr de carbonato de sodio. Este peso fue obtenido en relación al peso molecular del carbonato de sodio y la riqueza del compuesto (99,5%).

Una vez lograda la curva de calibración, se procede a analizar las muestras de los productos acuosos.

**Figura 7:** Diluciones en concentraciones de 250, 150, 125, 75 y 50  $\mu\text{g/mL}$  de ácido Gálico.



Fuente: Autor

## **2.5 Elaboración de productos alimenticios.**

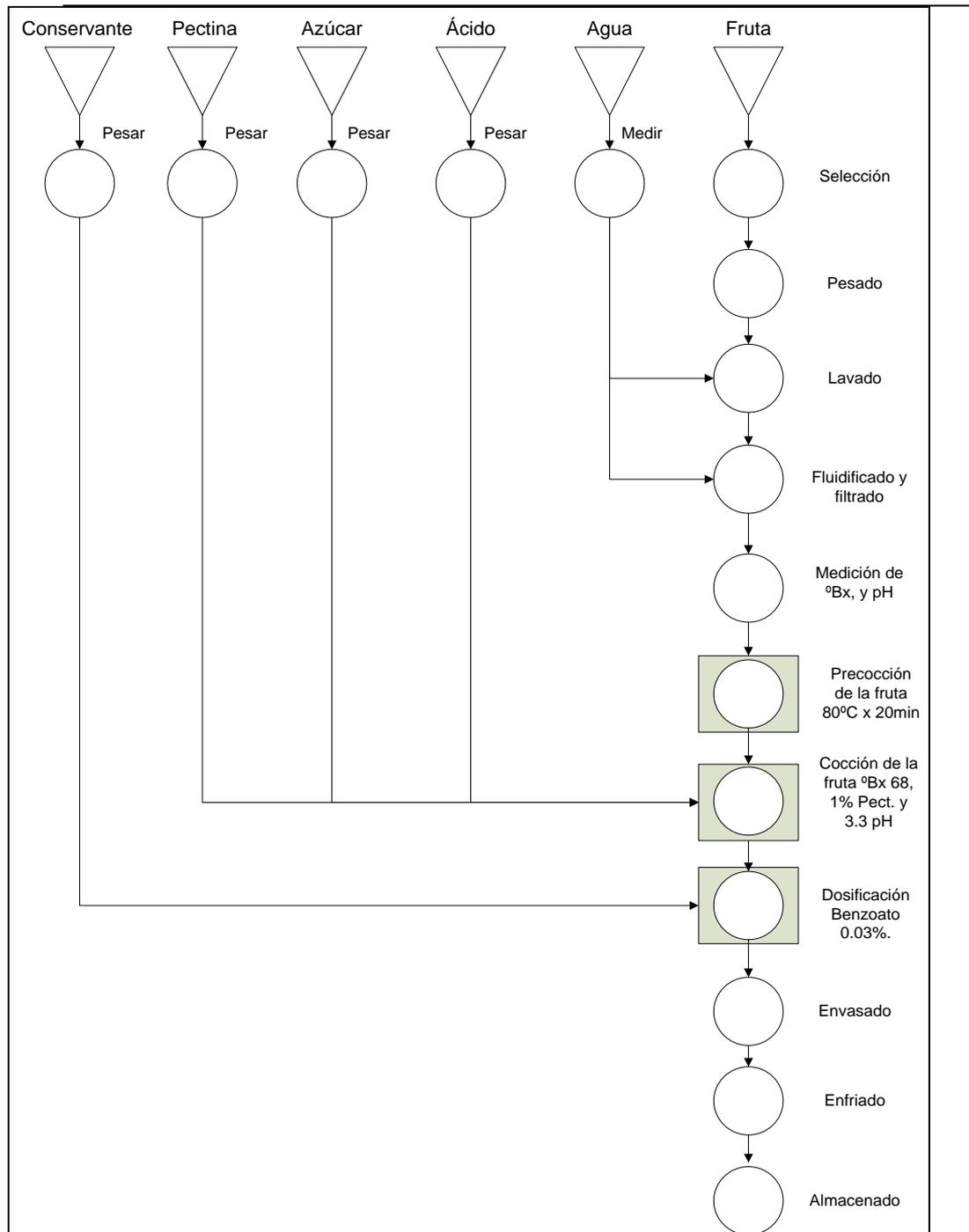
La elaboración de la mermelada, concentrado y jugo de uvilla, fueron preparados, en los laboratorios de bebidas y vegetales respectivamente, en la Universidad del Azuay en la Facultad de Ciencia y Tecnología.

La formulación de estos productos se la realizó tomando en cuenta los parámetros de las normas: la norma INEN 419:1988-05 (Anexo A-1) para mermeladas, y concentrado, y INEN 2337:2008 (Anexo A-2) para jugos. Los parámetros utilizados son usados como referencia ya que para este fruto no existe el parámetro dentro de la norma INEN, debido que este fruto no ha sido explotado industrialmente aun.

Para evaluar el efecto de los tratamientos térmicos sobre la actividad antioxidante del fruto en estudio, se elaboraron tres productos alimenticios: mermelada, concentrado y jugo de uvilla, a los cuales no se les ha añadido ningún producto conservante para que no influyan de ninguna manera al momento del análisis. A continuación se presentan los esquemas tecnológicos de los productos elaborados con este fin.

### 2.5.1 Mermelada de uvilla

**Figura 8.** Diagrama de flujo para la preparación de mermelada



**Fuente:** Autor

### **2.5.1.1 Descripción del proceso**

Para la elaboración de la mermelada de Uvilla se realizaron los pasos que se explican a continuación,

#### **- Selección.**

- Primero se somete a la fruta a un pre-lavado para eliminar impurezas. La selección de la fruta se realiza en forma manual, eliminando tallos, hojas y frutos con madurez excesiva o dañada, como también los frutos que no tengan una madurez adecuada.

#### **- Pesado**

El pesado de la fruta se realiza en una balanza electrónica con precisión de dos decimales. Se pesa la cantidad de materia prima que ingresa al proceso para calcular correctamente los agregados que se van a suministrar.

#### **- Lavado**

Se realiza un lavado minucioso de la fruta para evitar contaminantes en el proceso de elaboración.

#### **- Fluidificado y filtrado**

Los frutos son fluidificados y filtrados, atrapando solo las semillas de mayor tamaño. Además se realiza la medición de la pulpa obtenida para la realización de los cálculos.

#### **- Medición de °Brix y pH**

Los °Brix se determinaron por medio de un refractómetro y el pH por medio de un pHmetro. Además se realizaron los diferentes cálculos.

Para la regulación de °Brix se consideró que por cada kg de pulpa de fruta se agregue 800 gr de azúcar (Coronado y Rosales, 2001).

Para la regulación del pH se consideró la siguiente escala.

**Tabla No 3:** Relación de pH y cantidad de ácido cítrico a añadir (Coronado y Rosales, 2001).

<b>pH de la Pulpa</b>	<b>Cantidad de Ácido Cítrico a añadir</b>
3.5 a 3.6	1 a 2 gr/kg de pulpa
3.6 a 4.0	3 a 4 gr/kg de pulpa
4.0 a 4.5	5 gr/kg de pulpa
Más de 4.5	Más de 5 gr/kg de pulpa

**Fuente:** (Coronado y Rosales, 2001).

#### - **Pre-cocción**

La fruta se cuece suavemente a fuego lento. Este proceso es importante para romper las membranas celulares de la fruta y extraer toda la pectina. La temperatura alcanzada en esta etapa fue de 80°C y un tiempo aproximado de 20 minutos.

#### - **Cocción**

La cocción es la etapa de mayor importancia en la elaboración de la mermelada. Aquí se mezcla el azúcar y ácido para obtener las condiciones finales de la mermelada. El tiempo de cocción debe ser lo más corto posible para conservar las condiciones de color y sabor de los frutos.

#### - **Dosificación de conservante**

Una vez llegado al °Brix y pH deseado se procede a la adición del conservante, en este caso Benzoato de sodio (0,03%).

#### - **Envasado**

La mermelada se envasó en forma manual, en envases de vidrio de 250 mL.

#### - **Enfriado**

El enfriado de los envases de mermelada se realizó por medio de chorros de agua fría.

#### - Almacenado

El producto debe ser almacenado en un lugar fresco, limpio y seco; con suficiente ventilación.

A continuación se detallan los ingredientes empleados para la producción de la mermelada de uvilla, se evitó el uso de ácidos y conservantes para evitar casos de datos anómalos al momento del análisis.

**Tabla No 4.** Características de la producción de la mermelada de uvilla.

Producto	Mermelada	
Ingredientes (g)	Fruta	800 gramos
	Azúcar	500 gramos
	Agua	100 cm <sup>3</sup>
Condiciones	Temperatura	80-90° C
	Grados °Brix iniciales	13,9
	Grados ° Brix finales	68

**Fuente Autor**

**Figura No 9.** Producción de mermelada.

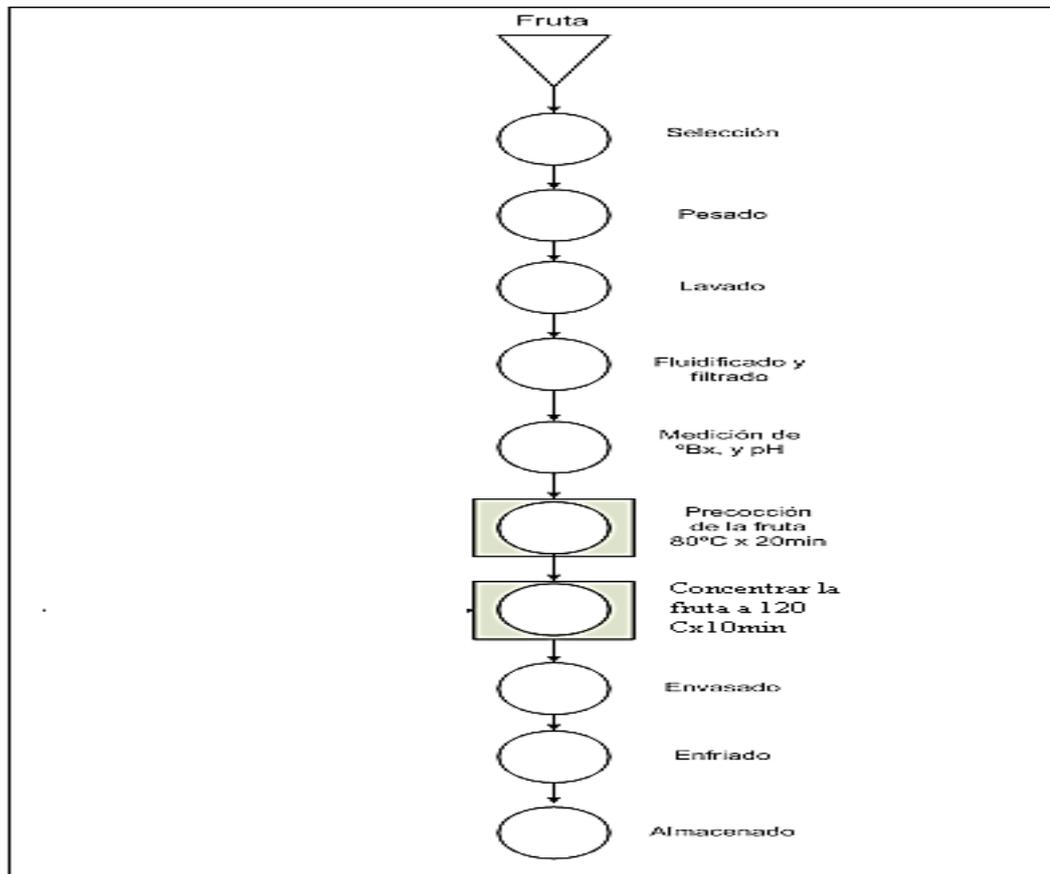


Fuente: Autor

### 2.5.2 Concentrado de uvilla:

Para la elaboración se usaron 400g de fruta. Se obtuvieron los siguientes datos.

**Figura 10.** Diagrama de flujo para la elaboración del Concentrado de uvilla.



Fuente: Autor

#### 2.5.2.1 Descripción del proceso:

##### - Selección

Primero se somete a la fruta a un pre-lavado para eliminar impurezas. La selección de la fruta se realiza en forma manual, eliminando tallos, hojas y frutos con madurez excesiva o dañada, como también los frutos que no tengan una madurez adecuada.

##### - Pesado

El pesado de la fruta se realiza en una balanza electrónica con precisión de dos decimales. Se pesa la cantidad de materia prima que ingresa al proceso para calcular correctamente los agregados que se van a suministrar.

- **Lavado**

Se realiza un lavado minucioso de la fruta para evitar contaminantes en el proceso de elaboración.

- **Fluidificado y filtrado**

Los frutos son fluidificados y filtrados, atrapando solo las semillas de mayor tamaño. Además se realiza la medición de la pulpa obtenida para la realización de los cálculos.

- **Medición de °Brix y pH**

Los °Brix se determinaron por medio de un refractómetro y el pH por medio de un pH metro. Además se realizaron los diferentes cálculos.

Para la regulación del pH se consideró la siguiente escala.

- **Concentrado de fruta**

La concentración es la etapa de mayor importancia en la elaboración de la mermelada. Aquí se obtiene las condiciones finales del producto. El tiempo de concentración debe ser lo más corto posible para conservar las condiciones de color y sabor de los frutos.

- **Envasado**

La mermelada se envasó en forma manual, en envases de vidrio de 250 mL.

- **Enfriado**

El enfriado de los envases de mermelada se realizó por medio de chorros de agua fría.

- **Almacenado**

El producto debe ser almacenado en un lugar fresco, limpio y seco; con suficiente ventilación.

El producto se concentra desde una concentración inicial de sólidos totales de 13,9 grados Brix hasta 48 grados brix.

**Figura No. 11:** Muestra de Concentrado de uvilla



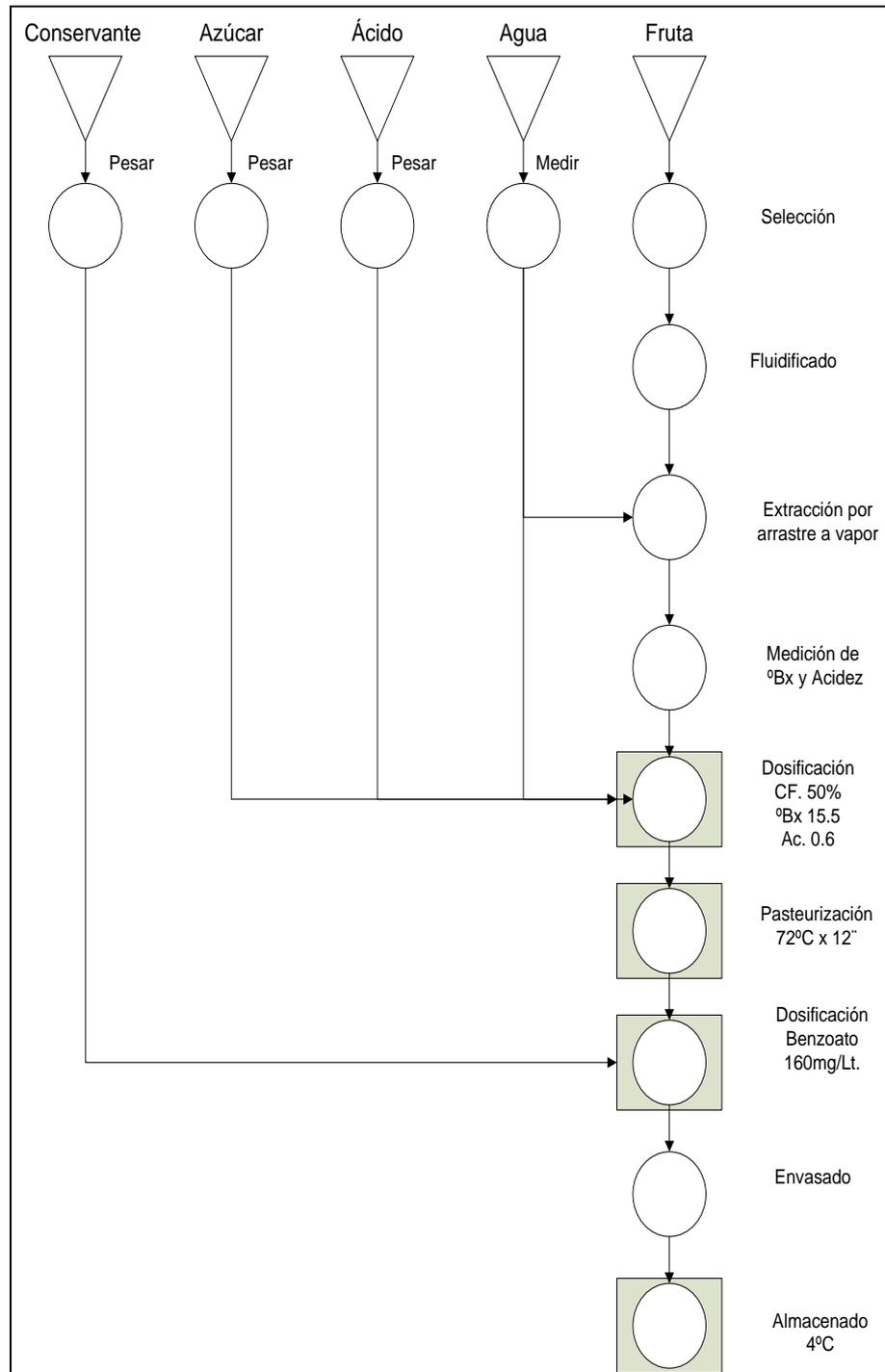
Fuente: Autor

**2.5.3 Jugo de uvilla:**

La elaboración del jugo de uvilla se desarrolla como se muestra en el siguiente diagrama de flujo, pero como en este caso el objetivo es analizar este producto; en lo que respecta a su actividad antioxidante, y si se vería afectada con la temperatura no se ha usado ninguna ácido, ni conservante para evitar cualquier falso o dato indebido por los ácidos o conservantes, que se pueden usar en la producción de este tipo de jugos.

Diagrama de flujo del proceso de elaboración de jugo en la industria.

**Figura 12:** Diagrama de flujo para la elaboración de jugo de uvilla.



Fuente Autor

### 2.5.3.1 Descripción del proceso

Para la elaboración del jugo de uvilla se realizaron los pasos que se explican a continuación.

#### - Selección

Primero se somete a la fruta a un pre-lavado para eliminar impurezas. La selección de la fruta se realiza en forma manual, eliminando tallos, hojas y frutos con madurez excesiva o dañada, como también los frutos que no tengan una madurez adecuada. Termina con el pesaje de los frutos que van a ser procesados.

#### - Fluidificado

Se introducen los frutos seleccionados en la licuadora y se procede a licuar. Luego se coloca el licuado en lienzos para proceder a la extracción.

#### - Medición de °Brix y Acidez

Los °Brix se determinaron por medio de un refractómetro y la acidez por titulación volumétrica de ácido cítrico presente en la muestra, para esto se utilizó hidróxido de sodio a una concentración de 0,1N.

#### - Dosificación

En esta etapa del proceso se realizaron los diferentes cálculos para obtener los °Brix y acidez deseados. Además se mezclan azúcar, ácido y se regula la concentración del extracto de fruta.

#### - Pasteurización

. Las condiciones de pasteurización fueron 72°C por 12 segundos.

#### - Dosificación de conservante

El conservante que se debería utilizar fue benzoato de sodio y su dosificación se la obtuvo del Código E (160mg/Lt).

- **Envasado**

El jugo se envasó de forma manual, en envases plásticos de 250 mL.

- **Almacenado**

El almacenaje debe realizarse en refrigeración a 4°C para conservar las condiciones organolépticas del jugo.

Esta tabla es por una muestra de 200ml.

**Tabla No 5:** Datos recolectados de la producción de Jugo de uvilla.

Producto	Mermelada	
Ingredientes (g)	Fruta	100 gramos
	Azúcar	40gramos
	Agua	100 gramos
Condiciones	Temperatura	72 ° C x12 segundos
	Grados °Brix iniciales	3,3
	Grados °Brix finales	14.5

**Fuente Autor.**

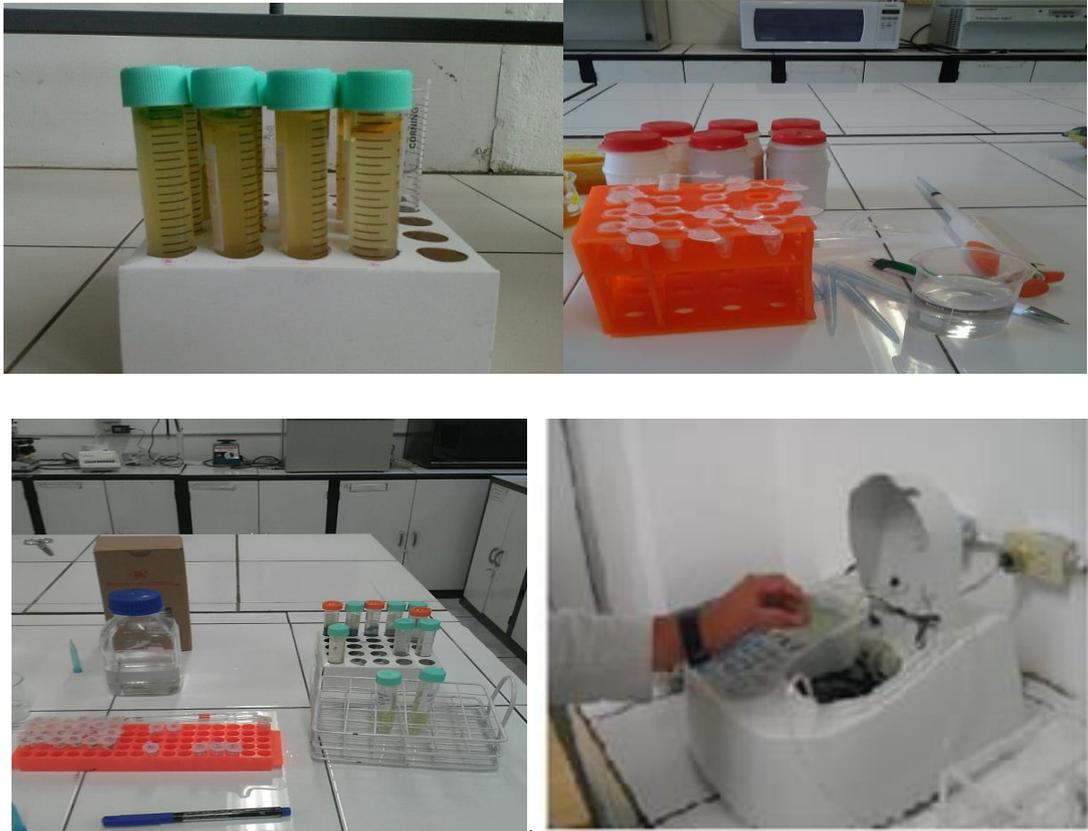
**Figura 13:** Muestra de jugo de uvilla.



**Fuente: Autor**

Todos los productos pasaron por el mismo proceso que pasaron los frutos, para producir extractos acuosos que nos permitan analizarlos, luego de ser procesados.

**Figura 14.** Fases del análisis de los productos



Fuente: Autor

### CAPÍTULO III: RESULTADOS

En este capítulo se presentan, los datos que se obtuvieron para poder establecerlos rangos de madurez, además de los resultados obtenidos de la cuantificación de la actividad atrapadora del radical libre DPPH y contenido de fenoles totales para las frutas de *P. peruviana* en sus diferentes estados de maduración y la evaluación de estos parámetros en los productos elaborados.

#### 3.1 Evaluación del grado de madurez de frutos de *P. peruviana*

Los frutos en estudio se clasificaron en función de los de la pulpa. Se evaluaron 16 muestras, obteniendo valores de grados brix que oscilan entre 8,1 y 15,5. Se formaron tres grupos de frutos, basados en la cantidad de °Brix, con esto se pudieron definir 3 rangos, según se pudo establecer como lo muestra en el siguiente cuadro:

**Tabla No 6:** División, de los rangos basados en °Brix

Muestra No	°Brix
1	8,1
2	8,4
3	8,5
4	8,1
5	9
6	9,5
7	9,8
8	11,4
9	12,4
10	12,6
11	12,8
12	13,9
13	14,2
14	14,6
15	15,3
16	15,5
Mayor	15,5
Menor	8,1

Grado 1	8,1-10,57 °Brix
---------	-----------------

Grado 2	10,57-13,04 °Brix
---------	-------------------

Grado 3	13,04-15,51 °Brix
---------	-------------------

Fuente: Autor

### 3.2 Evaluación de la Actividad antioxidante de extractos y productos alimenticios de *P. peruviana*

A continuación se presentan los resultados obtenidos en el ensayo de atrapamiento del radical libre DPPH en los extractos acuosos de frutos de *P. peruviana*, clasificados en función de su grado de maduración.

**Tabla No 7.** Capacidad atrapadora del radical DPPH de la fruta en estudio a diferentes grados madurez. (IC<sub>50</sub>: concentración inhibidora del 50% de DPPH).

MUESTR A ANÁLISIS	CONCENTRA CIÓN ( $\mu$ L/mL)	ABSORBANCIA 517nm	DECOLORACIÓ N %	IC <sub>50</sub>
Grado 3	25	0,395	52,180	29,295
	50	0,299	39,498	
	75	0,285	37,649	
	125	0,205	27,081	
	250	0,120	15,852	
	500	0,078	10,304	
Grado 2	25	0,414	54,690	32,585
	50	0,297	39,234	
	75	0,149	19,683	
	125	0,094	12,417	
	250	0,056	7,398	
	500	0,045	5,945	
Grado 1	25	0,380	50,727	27,170
	50	0,359	46,103	
	75	0,330	43,461	
	125	0,249	32,893	
	250	0,139	18,362	
	500	0,110	11,096	

Fuente: Autor.

Los productos alimenticios elaborados con pulpa del fruto en estudio fueron evaluados y los resultados se presentan en el siguiente cuadro.

**Tabla No 8:** Capacidad atrapadora del radical DPPH en los productos elaborados a partir de la fruta en estudio

PRODUCTO	CONCENTRACIÓN ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	ABSORBANCIA	PORCENTAJE DE DECOLORACIÓN	IC <sub>50</sub>
Mermelada	25	0,440	58,124	66,106
	50	0,412	54,425	
	75	0,360	47,556	
	125	0,278	36,724	
	250	0,183	24,174	
	500	0,112	14,795	
Concentrado	25	0,452	59,709	100,72
	50	0,420	55,482	
	75	0,382	50,462	
	125	0,261	34,478	
	250	0,196	25,892	
	500	0,128	16,909	
Jugo	25	0,410	54,161	52,218
	50	0,384	50,727	
	75	0,322	42,536	
	125	0,245	32,365	
	250	0,149	19,683	
	500	0,112	14,795	

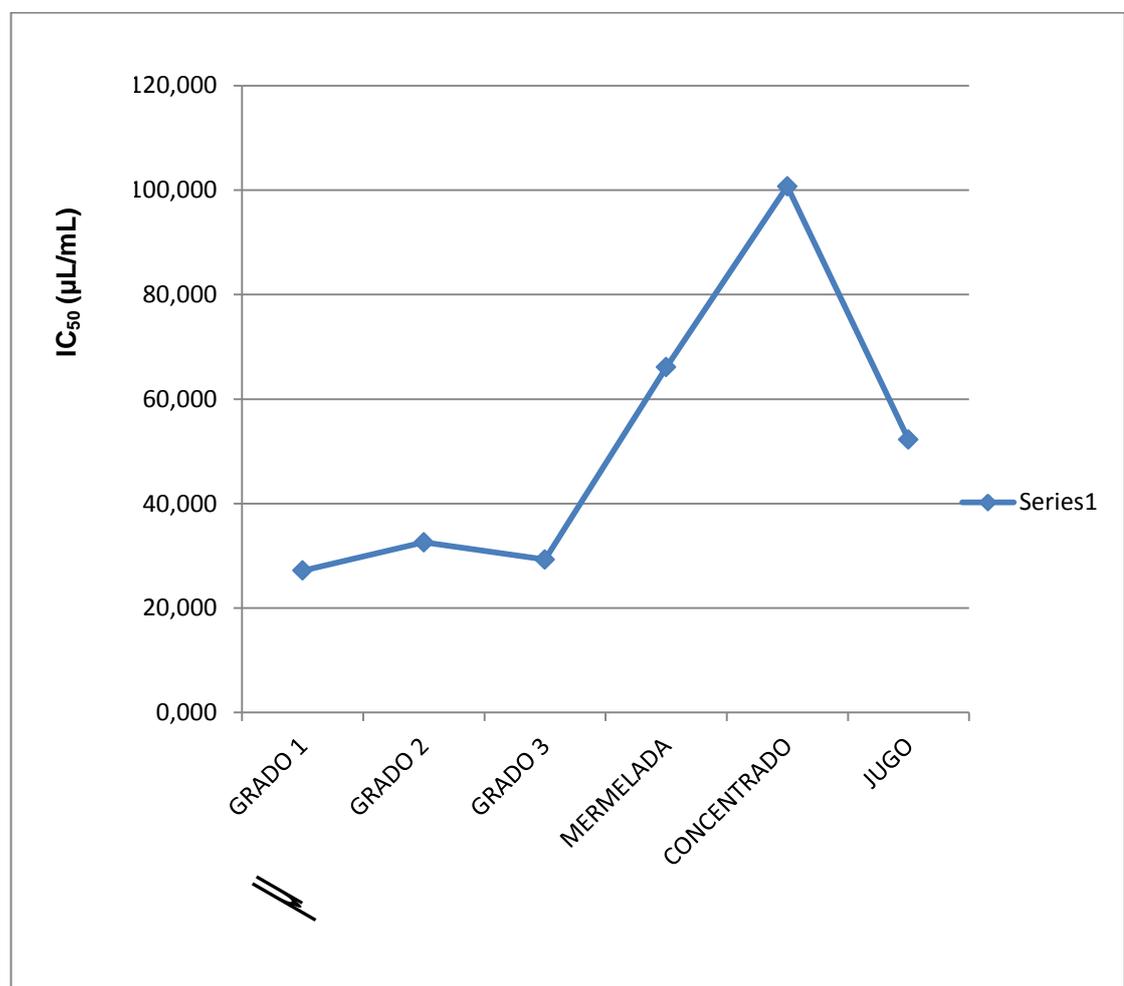
Fuente Autor

En las tablas anteriores se muestra un rango de IC<sub>50</sub> 27,170 a 32,585  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . La muestra que presenta el IC<sub>50</sub> más bajo es el fruto de uvilla de Grado 1, lo que nos indica que es la muestra con mayor cantidad de antioxidantes ya que solo se necesita 27,170  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de fruto de uvilla para inhibir el 50% de los radicales libres. Además, nos indica que en los productos ha cambiado la capacidad antioxidante

disminuyendola calidad antioxidante obteniendo un dato mínimo del jugo de la uvilla con 52,218  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

En el siguiente gráfico se comparan los valores de  $\text{IC}_{50}$  obtenidos en el análisis de las frutas en sus diversos estados de maduración y los dos productos elaborados para evaluar el efecto del tratamiento térmico en la actividad antioxidante.

**Figura 15.** Variación de  $\text{IC}_{50}$  de atrapamiento del radical DPPH en la uvilla en sus diferentes grados de madurez, y su cambio en los productos realizados.



Tipos de muestras

**Fuente: Autor.**

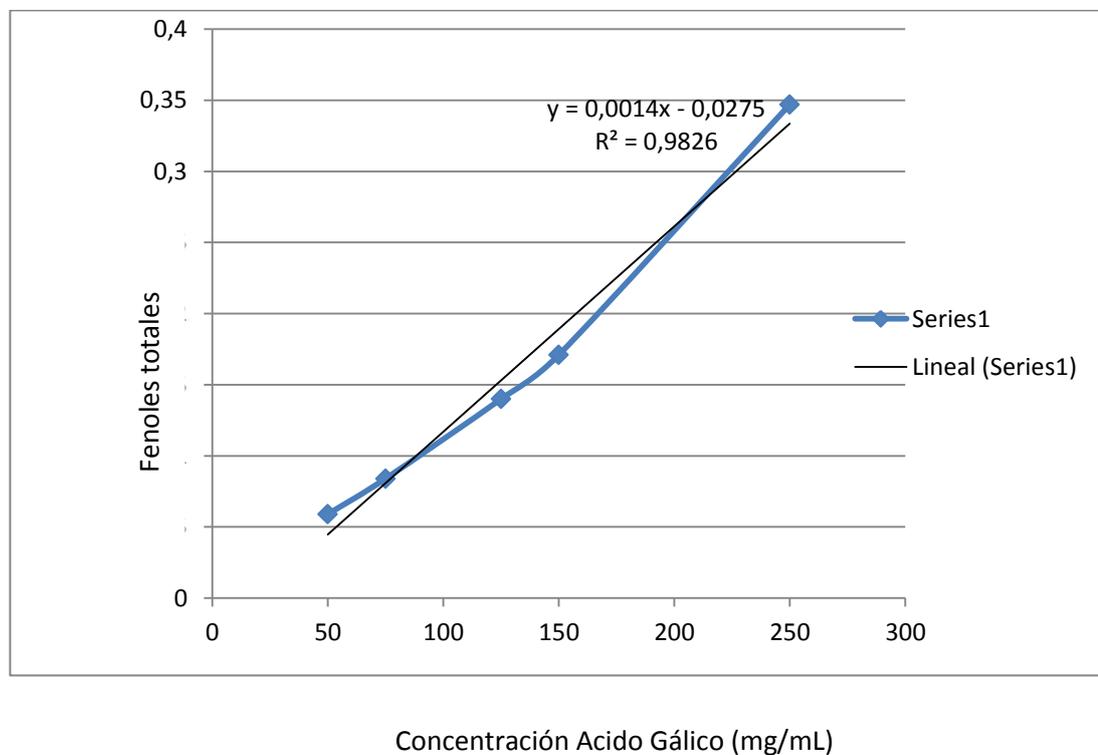
### 3.3 Cuantificación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu.

A continuación se presentan los resultados obtenidos en la determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Se presenta el desarrollo de la curva de calibración utilizando como sustancia de referencia ácido gálico y los resultados obtenidos con los frutos en sus diferentes grados de maduración y productos elaborados.

#### 3.3.1 Curva de calibración con sustancia de referencia

La curva de calibración se realizó desarrollando el procedimiento descrito en la sección 2.4.3; con soluciones de ácido gálico en un rango de concentraciones de 50 a 250 ug /ml. Las determinaciones fueron realizadas por triplicado. A continuación se presenta el gráfico concentración vs. Contenido fenólico y la ecuación generada por el método de mínimos cuadrados.

**Figura 16.** Curva de Calibración de Acido Gálico.



Fuente: Autor

### 3.3.2 Cuantificación de fenoles totales en las muestras de frutos y productos elaborados de *P. peruviana*

Para establecer el contenido de fenoles totales expresados como mg de ácido gálico por mL de muestra, se desarrolló la reacción de Folin Ciocalteu, según lo descrito en (Ver 2.4.1). Las mediciones se realizaron en las muestras preparadas a una concentración de 125  $\mu\text{g/mL}$ , debido a la menor variabilidad obtenida a esta concentración. Este dato permitió extrapolar a la concentración de fenoles totales, expresada como mg de ácido gálico por mL de muestra.

**Tabla No 9:** Cuantificación de fenoles totales en las muestras de frutos y productos elaborados de *P. peruviana*.

	Concentración	Absorbancia 765nm	mg/ml
	$\mu\text{g/mL}$		
Grado 1	MUESTRA		
8,1-10,57 ° Brix	125	0,057	6,036
Grado 2	MUESTRA		
10,57-13,04°Brix	125	0,048	5,393
Grado 3	MUESTRA		
13,04-15,51 °Brix	125	0,056	5,964
Muestras	MUESTRA		
Concentrado	125	0,036	4,536
Muestras	MUESTRA		
Mermelada	125	0,041	4,893
Muestra	MUESTRA		
Jugo	125	0,049	5,464

**Fuente: Autor**

Una vez analizadas las frutas y los productos de uvilla nos ha dado un rango en los grados de madurez, de 5,393 a 6,036 mg GAE /mL, lo cual se muestra que si hay disminución de fenoles totales con respecto a los frutos en comparación con algunos de los productos, se podría decir que teniendo como el mejor prospecto al jugo de

uvilla con 5,464 mg GAE /ml, el cual se debe tal vez por su tiempo de pasteurización, y la temperatura que se usó en su producción.

### 3.4 Variación del contenido de fenoles totales en función al estado de madurez de la fruta y los tratamientos térmicos para la elaboración de productos alimenticios

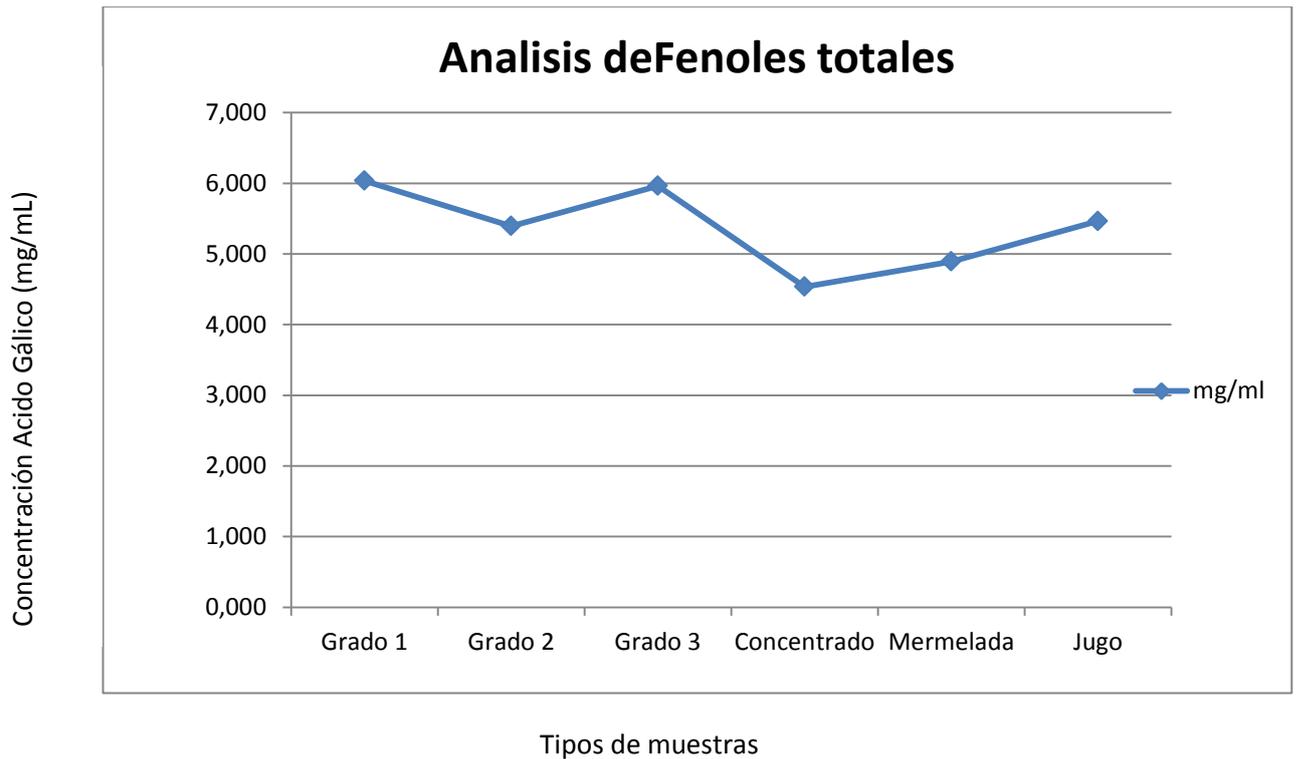
.A continuación se presenta la variación registrada del contenido de fenoles totales para las frutas en sus diferentes grados de maduración y los productos elaborados a diferentes condiciones de temperatura.

**Tabla 10.** Tabla de datos del análisis de frutos y productos de uvilla, para la elaboración de la curva para comparar, los cambios producidos.

MUESTRA	mg GAE /mL
Grado 1	6,036
8,1-10,57 °Brix	
Grado 2	5,393
10,57-13,04 °Brix	
Grado 3	5,964
13,04-15,51 °Brix	
Muestras	4,536
Concentrado	
Muestras	4,893
Mermelada	
Muestra	5,464
Jugo	

**Fuente: Autor**

**Figura 17:** Variación del contenido de compuestos fenólicos expresados como unidades de ácido gálico



**Fuente:** Autor

## CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN

### Introducción

En este capítulo se analizan los resultados obtenidos en la presente investigación, comparándolos con hallazgos previos de la actividad antioxidante de *Physalis peruviana*. Además, se contextualizan y explican los hallazgos relevantes, en función a los objetivos del presente estudio

### 4.1 Discusión.

En nuestros días, la manera de alimentarse ha cambiado; el hecho de elegir un producto va más allá del marketing solamente. Se busca algo más que sabor o un empaque atractivo. Los consumidores exigen que los alimentos tengan un aporte extra para la salud. Debido a esta nueva inclinación de consumo las investigaciones basadas en la bioactividad de los alimentos deben ser consideradas para establecer el potencial de frutos nativos de Ecuador.

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) pueden reaccionar con moléculas como el ADN, proteínas, fosfolípidos y eventualmente causar daño oxidativo en tejidos, dando como resultado enfermedades relacionadas con radicales libres, como inflamación, diabetes y cáncer. Los organismos aerobios son protegidos de la toxicidad de las ERO por su sistema de defensa antioxidante natural, que involucra mecanismos enzimáticos y no enzimáticos. Un desbalance entre las cantidades de ERO y el sistema de defensa antioxidante puede llevar a la aparición de problemas de salud (Wu, et al., 2005). En este estudio se evaluó el efecto antioxidante de extractos acuosos de *Physalis peruviana* y dos productos elaborados en base a este fruto.

Los resultados obtenidos muestran que el fruto, según los diferentes estados de maduración, posee valores de  $IC_{50}$  que oscilan entre 27,170 a 32,585  $\mu\text{g/mL}$ . (ver sección Resultados). Las frutas del grado 2 presentan el valor más elevado, y las de coloración verdosa la  $IC_{50}$  menor. Los resultados obtenidos son promisorios ya que se trata de valores bajos con los cuales se demuestra la capacidad de inhibir el potencial oxidante del 50% de los radicales libres. En relación al grado de

maduración, se puede establecer que los cambios fisiológicos sufridos durante la maduración del fruto están asociados a modificaciones químicas que eventualmente disminuyen ligeramente el potencial antioxidante del fruto.

Los resultados obtenidos en los productos procesados muestran el potencial de este fruto como materia prima para el desarrollo de alimentos funcionales. Dentro de los valores de  $IC_{50}$  obtenidos en los productos procesados nos muestran que el  $IC_{50}$  es mayor que el del fruto sin procesar, lo que nos indica que a la calidad de la capacidad antioxidante a disminuido (ver Sección Resultados) pero tampoco a anulado la capacidad antioxidante que posee el producto final, ya que la cantidad que se ha encontrado aunque no es la misma que en el fruto sin procesar.

El contenido de fenoles totales de los frutos en función a su estado de maduración presenta valores cercanos a los 5 mg/mL, expresados como unidades de ácido gálico. Estos resultados concuerdan con el estudio de Valdenegro M, Fuentes L, Herrera R, Moya-León M, (2011). En este trabajo se reporta que no existen variaciones significativas del contenido de fenoles totales en función del estado de maduración de los frutos.

Al igual que lo observado en la actividad antioxidante, los productos procesados a diferentes temperaturas tienen sufren una disminución fenoles totales, aunque no sufren una pérdida completa. Este hallazgo nos indica que aunque la cantidad de antioxidantes sufre una disminución, tampoco anula al fruto para posibles productos con Bioactividad.

La uvilla ha estado en nuestro medio desde tiempos inmemoriales. Actualmente su cultivo y producción han mejorado en Sudamérica, aunque en nuestro país estos factores no han sido explotados de buena manera, debido a la falta de información sobre el potencial de esta de la fruta. Se ha demostrado con estos análisis que la uvilla es un fruto que puede ser utilizado en el desarrollo de alimentos funcionales. En este estudio se seleccionaron frutos en estados de maduración Grado 2 y 3, o también vistos por el ojo de coloración amarillo – anaranjada, dadas las características organolépticas que permiten obtener concentrados y mermeladas de sabor dulce más intenso, además de que los estudios en los frutos no muestran una gran variabilidad en cuanto a su contenido de antioxidantes.

La uvilla es altamente valiosa en el mercado mundial por su sabor característico, textura, color y beneficios en la salud. Estudios recientes establecen que este fruto posee compuestos beneficiosos para la salud, como la vitamina K, whitanólidos y glicósidos (Ramadan, 2011). Estos compuestos están asociados a actividades antimicrobianas, antitumorales, antiinflamatorias, hepatoprotectoras e inmunomoduladoras (Fang., 2009).

Los resultados obtenidos en esta investigación permiten demostrar el potencial de los frutos de *Physalis peruviana* como materia prima en el desarrollo de productos alimenticios funcionales es una buena opción para ser explotada mercantilmente. Esta estrategia permitirá que los productores tengan nuevas alternativas para dotar de valor agregado al fruto de uvilla y los consumidores tendrán a su alcance productos procesados de mayor vida útil y con un aporte para su nutrición con beneficios potenciales a la salud.

## CONCLUSIONES.

El desarrollo de la presente investigación permite establecer las siguientes conclusiones:

- Los frutos de *Physalis peruviana L.* tienen un elevado contenido antioxidante, demostrado por los bajos valores de IC<sub>50</sub> determinados en la prueba “in vitro” de atrapamiento del radical libre estable DPPH.
- Los productos procesados aunque disminuyen en su capacidad antioxidante debido a cambios químicos sufridos por las moléculas bioactivas debido a los tratamientos térmicos empleados, pero pese a esto no se han perdido en su totalidad lo cual nos permite tener aún una buena cantidad antioxidante incluso en los productos propuestos que han pasado por un tratamiento térmico.
- El contenido de fenoles totales no varía en función a los niveles de maduración del fruto. Los resultados obtenidos concuerdan con estudios recientes, y permiten establecer que la concentración de compuestos fenólicos no está asociada a las variaciones fisiológicas asociadas a la maduración del fruto, ya que el incremento entre grados de maduración es poco significativo.
- Los productos elaborados a partir de *Physalis peruviana* conservan una gran cantidad del potencial antioxidante del fruto, pero cabe recalcar no en su totalidad. Pero por sus beneficios a la salud, su sabor característico y por aumentar el tiempo de vida en estante, se recomienda la industrialización de este fruto para así otorgar valor agregado a un producto que use como materia prima este fruto.

## **RECOMENDACIONES**

- Se recomienda el uso de la uvilla en el campo de la industria ya que, su actividad antioxidante se ve afectada pero en poca cantidad con el tratamiento térmico por lo tanto se recomienda su industrialización tanto en mermeladas, concentrados, y jugos entre otros productos, gracias a los cuales podría iniciar una nueva industria usando frutos que han existido en nuestro medio desde ya mucho tiempo.
- La generación de nuevos productos de alimentos funcionales es promisorio, hoy en día, y aún más el poder producirlos utilizando uvilla como materia prima; ya que al poder usar tratamientos térmicos en este fruto, como una base para la producción de alimentos funcionales con gran potencial antioxidante, no solamente usando esta fruta directamente sino también de manera indirecta como al usarla en chocolatería, dulces, sin número de bebidas, jaleas e incluso licores.

**BIBLIOGRAFÍA**

- **BRITO, D.** (2002). Agroexportación de productos no tradicionales. "Productores uvilla para exportación". Boletín (Quito - Ecuador).
- **BENAVIDES, N., CUASQUI, P.** (2008). Estudio Postcosecha, de la uvilla sin capuchón. Tesis previa obtención del título de Bioquímico Farmacéutico, Universidad Técnica del Norte. Ecuador Ibarra.
- **CORONADO T. MYRIAM y ROSALES H. ROALDO** (2001), Elaboración de mermeladas. Procesamiento para pequeña industria y microempresas agroindustriales/ Unión Europea, CIED, EDAC, CEPCO. Lima Perú.
- **CENTRO NACIONAL INTELIGENCIA DEL CAFÉ,** (2009), Estudio Perfil de la uvilla. Disponible en: <http://www.pucesi.edu.ec/pdf/uvilla.pdf> Consulta septiembre 23 del 2012.
- **ECHAVARRÍA, B., FRANCO, A., & MARTÍNEZ, A.** (2009). Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de macroalgas del Caribe Colombiano. *Vitae*, 16(1), 126-131.
- **FISCHER, G., & MARTÍNEZ, O.** (1999). Calidad y madurez de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) en relación con la coloración del fruto. *Agronomía colombiana*, 16(1-3), 35-39.
- **FISCHER G, MIRANDA D, PIEDRAHITA W.,** (2005)., Avances en cultivo poscosecha y exportación de la uchuva (*Physalis peruviana* L) en

Colombia, Universidad Nacional de Colombia, Bogota Colombia,.pag 111 – 128.

- **FANG, S. T., LI, B., & LIU, J. K.** (2009). Two new withanolides from *Physalis peruviana*. *Helvetica Chimica Acta*, 92(7), 1304-1308. Ramadan, M. F. (2011). Bioactive phytochemicals, nutritional value, and functional properties of cape gooseberry (< i> *Physalis peruviana*</i>): An overview. *Food Research International*, 44(7), 1830-1836.
- **GALARZA A, FLORES E, LÓPEZ V**, Perfil de la uvilla e inteligencia, Centro de Información comercial CICO, <http://www.pucesi.edu.ec/pdf/uvilla.pdf>, Noviembre 2009. Consulta: 15 de septiembre del 2012.
- **HARBONE, J.** (1998). *Phytochemical Methods*. 3ra Edición. Chapman & Hall. Pág. 40-41.
- **JUNTAMAY, E.** (2010). Tesis: Evaluación Nutricional de la Uvilla (*Physalis peruviana*) deshidratada a 3 temperaturas mediante un deshidratador de bandejas. Tesis previa obtención del título de Bioquímico Farmacéutico Universidad Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador Riobamba.
- **LUTEYN, J.** (2002). Institute of Systematic Botany, The New York Botanical Garden <http://sweetgum.nybg.org/vh/specimen.php?irn=260052>, Consulta: 20 de septiembre del 2012.
- **MARJA P ., HOPIA A, AND HEINONEN, M.** (1999); Antioxidant A Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds, [pubs.acs.org](http://pubs.acs.org), Consulta 22 de septiembre del 2012.

- **MOLYNEUX, P.** (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol*, 26(2), 211-219.
- **PACHECO-PALENCIA, LISBETH A.; DUNCAN, CHRISTOPHER E.; TALCOTT, STEPHEN T.** (2009). Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. *Food Chemistry*, 115 (4); 1199-1205.
- **PAREJO, I., VILADOMAT, F., BASTIDA, J., ROSAS-ROMERO, A., SAAVEDRA, G., MURCIA, M. A., & CODINA, C.** (2003). Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. *Life sciences*, 73(13), 1667-1681.
- **PUENTE, L. A., PINTO-MUÑOZ, C. A., CASTRO, E. S., & CORTÉS, M.** (2011). *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. *Food Research International*, 44(7), 1733-1740.
- **SANTOS, N. A., CORDEIRO, A. M., DAMASCENO, S. S., AGUIAR, R. T., ROSENHAIM, R., CARVALHO FILHO, J.R., Y SOUZA, A. G.** (2012). Commercial antioxidants and thermal stability evaluations. *Fuel*, 97, 638-643.
- **SCHIEBER, A., STINTZING, F. C., & CARLE, R.** (2001). By-products of plant food processing as a source of functional compounds—recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, 12(11), 401-413.
- **TAFURT G, G., MARTÍNEZ, J. R., & STASHENKO, E. E.** (2005). Evaluation of Antioxidant Activity of Essential Oils in Emulsions Degraded by Ultraviolet Radiation. *Revista Colombiana de Química*, 34(1), 43-55.

- **VALDENEGRO, M., FUENTES, L., HERRERA, R., & MOYA-LEÓN, M. A.** (2012). Changes in antioxidant capacity during development and ripening of goldenberry (*Physalis peruviana* L.) fruit and in response to 1-methylcyclopropene treatment. *Postharvest Biology and Technology*, 67, 110-117.
- **VEERLE VAN DEN EYDEN., EDUARDO CUEVA., OMAR CABRERA,** (1999) Plantas Silvestres comestibles del sur del Ecuador, Nina comunicaciones.
- **WU, S. J., NG, L. T., HUANG, Y. M., LIN, D. L., WANG, S. S., HUANG, S. N., & LIN, C. C.** (2005). Antioxidant activities of *Physalis peruviana*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(6), 963-966.
- **YETTELLA, R. R., HENBEST, B., & PROCTOR, A.** (2011). Effect of antioxidants on soy oil conjugated linoleic acid production and its oxidative stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(13), 7377-7384.

## ANEXOS

- **Anexo A-1**

### NORMA INEN 419:1988-05

#### CONSERVAS VEGETALES MERMELADA DE FRUTAS REQUISITOS

##### 1. OBJETO

- 1.1. Esta norma establece los requisitos que deben cumplir las mermeladas de frutas.

##### 2. TERMINOLOGÍA

- 2.1. **Mermelada de frutas.-** Es el producto obtenido por la cocción del ingrediente de fruta, como se define en el 2.2, mezclado con azúcares, otros ingredientes permitidos y concentrados hasta obtener la consistencia adecuada.
- 2.2. **Ingredientes de fruta.-** Es el producto preparado a partir de:
- a) Fruta fresca, fruta entera, trozos de fruta, pulpa o puré de fruta, congelada, concentrada y/o diluida o conservada por algún otro método permitido.
  - b) Fruta sana, comestible, de madurez adecuada y limpia, no privada de ninguno de sus componentes principales, con excepción de que este cortada, clasificada o tratada por algún otro método para eliminar defectos tales como magullamientos, pedúnculos, partes superiores, restos, corazones, hueso (pepitas) y que puede estar pelada o sin pelar.

- c) Que contiene todos los sólidos solubles naturales (extractivos) excepto los que se pierden durante la preparación de acuerdo con las prácticas correctas de fabricación.
- 2.3. Consistencia adecuada.-** Es la que debe presentar la mermelada cuando:
- a) La textura sea firme, untuosa, sin llegar a ser dura.
  - b) En caso de usar trozos de fruta, estos deben estar uniformemente dispersos en toda su masa.
- 2.4. Otras materias vegetales extrañas.-** Porciones o partículas extrañas de materias vegetales extrañas inofensivas y que midan máximo 5 mm en cualquier dimensión.
- 2.5. Fruta dañada o machacada.-** Es la fruta o pedazos de la misma, cuya apariencia o calidad comestibles están deterioradas por magulladuras, partículas oscuras, daños causados por insectos, hongos, bacterias y áreas endurecidas.
- 2.6. Cáscaras y ojos.-** Cualquier trozo de epidermis incluyendo los “ojos” o partes de los mismos, que se eliminan normalmente cuando se prepara la fruta para la elaboración de la mermelada.
- 2.7. Semillas.-** Son aquellas semilla provenientes de la fruta que están o no completamente desarrolladas.
- 2.8. Cáscara manchada.-** Son pedazo de cáscara con manchas oscuras superficiales apreciables a simple vista.
- 2.9. Carozo.-** Es el hueso entero del durazno que se elimina en la preparación de la fruta para la elaboración de la mermelada.
- 2.10. Fragmentos de carozo.-** Pieza de hueso menor del equivalente de la mitad un hueso y que pesa por lo menos 5 miligramos.

- 2.11. Cáscara o piel.-** Cualquier trozo de epidermis que se elimina normalmente cuando se prepara la fruta para la elaboración de la mermelada.
- 2.12. Hojas.-** Cualquier partícula de hoja o bráctea que mida más de 5 mm en cualquier dimensión.

### **3. DISPOSICIONES GENERALES**

- 3.1.** El producto, así como la materia prima usada para elaborarlo, cumplirá con las especificaciones de la Norma INEN 405.
- 3.2.** Otras definiciones empleadas en esta norma constan en la Norma INEN 377.
- 3.3.** La materia prima utilizada para elaborar a la mermelada debe corresponder a las variedades comerciales para conserva.
- 3.4.** La mermelada debe ser elaborada con 45 partes, en masa, del ingrediente de fruta original por cada 55 partes de los edulcorantes mencionadas en el numeral 4.3.5.

### **4. REQUISITOS**

- 4.1.** La materia seca total de la mermelada debe ser, por lo menos 3% más elevada que los azúcares totales como sacarosa ensayada de acuerdo con la norma ecuatoriana correspondiente (ver INEN 382).
- 4.2.** El producto estará exento de sustancias colorantes, saborizantes y aromatizantes artificiales y naturales extraños a la fruta.
- 4.3.** Se podrán añadir al producto las siguientes sustancias:
- a) Pectina, en la proporción necesaria de acuerdo con las prácticas correctas de fabricación.

- b)** Ácido cítrico, L-tartárico málico, solos o combinados, en las cantidades necesarias para ayudar a la formación del gel, de acuerdo con las prácticas correcta de fabricación.
  - c)** Persevantes, benzoato sódico, ácido sórbico o sorbato potásico solos o combinados, sin exceder del límite indicado en la Tabla 1.
  - d)** Antioxidante, ácido ascórbico en la proporción indicada en la Tabla 1.
  - e)** Edulcorantes, azúcar refinada, azúcar invertido, dextrosa o jarabe de glucosa. No se permite el uso de edulcorantes, artificiales.
  - f)** Antiespumante permitidos, no más de la cantidad necesaria para inhibir la formación de espuma, de acuerdo con las prácticas correctas de fabricación.
- 4.4.** La mermelada presentará un color característico de la variedad o variedades de fruta empleadas, distribuido uniformemente en toda su masa y libre de coloraciones extrañas por oxidación, elaboración defectuosa, enfriamiento inadecuado y otras causas.
- 4.5.** El olor y sabor serán los característicos del producto, con ausencia de olores y sabores extraños.
- 4.6.** El límite máximo de materia vegetales extrañas inocuas permitidas en la mermelada, será el indicado en el cuadro 1.
- a)** Cuando la unidad de tolerancia sea mayor que el contenido neto en gramos de los envases individuales, se sumará la masa de varios envases para llegar a la cantidad requerida de mermelada. Por ejemplo: en un lote que consiste en envases de aproximadamente de 500g de masa, y con un cierto defecto permitido en 3000g, tal defecto estará permitido en un total de no más de 6 envases.
- 4.7.** El producto debe estar exento de almidones, féculas y otros gelificantes que no sea la pectina.
- 4.8.** La mermelada cumplirá, además, con lo especificado en Tabla 1.

- 4.9.** El producto debe presentar ausencia de microorganismos osmóticos y xerofílicos por gramo de producto en condiciones normales de almacenamiento; y no deberá e ninguna sustancia originada a partir de microorganismos, en cantidades que puedan representar un riesgo para la salud (ver INEN 1 529).
- 4.10.** El límite máximo de impurezas minerales permitido en la mermelada de piña, naranja, durazno, guayaba y membrillo es de 0,01% en masa. Para mermeladas de mora y frutilla es de 0,04% en masa (ver INEN 1 630).

**Tabla 1. Requisitos de la mermelada de frutas.**

<b>CARACTERISTICAS</b>	<b>UNIDAD</b>	<b>MIN.</b>	<b>MAX</b>	<b>MÉODO DE ENSAYO.</b>
Sólidos solubles (a 20°C)	% m/m	65	-	INEN 380
pH		2,8	3,5	INEN 389
Ácido ascórbico	mg/kg	-	500	INEN 384
Dióxido de azufre	mg/kg	-	100	*
Benzoato sódico, sorbato potásico, solo o combinado	mg/kg	-	1 000	*
Mohos	% campos positivos	-	30	INEN 386
Cenizas	% m/m		**	INEN 401
* Hasta que se elaboren las normas INEN correspondientes, se aplicarán las normas internacionales que recomienda la autoridad competente.				
** Ver apéndice Y.				

## **5. REQUISITOS COMPLEMENTARIOS**

**5.1. Envase.-** Los envases para la mermelada deberán ser de materiales resistentes a la acción del producto, que no alteren las características organolépticas y no cedan sustancias tóxicas.

- a)** El producto deberá envasarse en recipientes nuevos y limpios, de modo que se reduzcan al mínimo las posibilidades de contaminación posterior y de alteración microbiológica.
- b)** El llenado debe ser tal, que el producto ocupe el 90% de la capacidad total del envase (ver Norma INEN 394).

**5.2. Rotulado.-** El rotulado del envase debe ser impreso con caracteres legibles e indelebles la siguiente información:

- a)** Designación del producto.
- b)** Marca comercial.
- c)** Número de lote o código.
- d)** Razón social de la empresa.
- e)** Contenido neto en unidades S.I.
- f)** Fecha del tiempo máximo de consumo.
- g)** Número de Registro Sanitario.
- h)** Lista de ingredientes.
- i)** Precio de venta al público.
- j)** País de origen.
- k)** Norma técnica INEN de referencia.
- l)** Forma de conservación.
- m)** Las demás especificaciones exigidas por la Ley.

- 5.3.** No debe tener leyendas de significad ambiguo ni descripciones de las características del producto que no puedan comprobarse debidamente.
- 5.4.** La comercialización de este producto cumplirá con lo dispuesto en las Regulaciones y Resoluciones dictadas con sujeción a la ley de Pesas y Medidas.

## **6. MUESTREO**

- 6.1.** El muestreo debe realizarse de acuerdo con la Norma INEN 378.

- **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 carnosos y comestible de la fruta sin fermentar pero susceptible de fermentación, obtenido por procesos tecnológicos adecuados por ejemplo, entre otros: tamizando, triturando o desmenuzando, 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 una 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 ESPECÍFICOS**

- 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**

### **5.1 Requisitos específicos para los jugos y pulpas de frutas**

**5.1.1** El jugo puede ser turbio, claro o clarificado y debe tener las características sensoriales propias de la fruta de la cual procede.

**5.1.2** La pulpa debe tener las características sensoriales propias de la cual procede.

**5.1.3** El jugo y la pulpa debe estar exento de olores o sabores extraños u objetables.

#### **5.1.4** *Requisitos físicos-químicos*

**5.1.4.1** 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.**

<b>FRUTA</b>	<b>Nombre Botánico</b>	<b>Sólidos Solubles <sup>a)</sup></b> <b>Mínimo</b> <b>NTE INEN 380</b>
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

<sup>a)</sup> 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.

## **5.2 Requisitos específicos para las bebidas de frutas**

- 5.2.1** 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 cm<sup>3</sup> expresado como ácido cítrico anhidro) que tendrán un aporte mínimo del 5% m/m.
- 5.2.2** El pH será inferior a 4,5 (determinado según NTE INEN 389).
- 5.2.3** Los grados °Brix serán proporcionales al aporte de fruta, con exclusión de la azúcar añadida.

## **5.3 Requisitos complementarios**

- 5.3.1** El espacio libre tendrá como valor máximo el 10 % del volumen total del envase (ver NTE INEN 394).
- 5.3.2** 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).

## **6. INSPECCIÓN**

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

## **7. ENVASADO Y EMBALADO**

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

**8. ROTULADO**

- 8.1** 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.
- 8.2** En el rotulado debe estar claramente indicado la forma de reconstituir el producto.
- 8.3** No debe tener leyendas de significados ambiguos, no descripciones de características del producto que no puedan ser comprobado.