



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA**

CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Tema: Estudio de las propiedades funcionales de la cáscara, pulpa y semilla del capulí (Rosaceae: *Prunus serotina*) en estado fresco y congelado

Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniera en Alimentos otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Liliana Consuelo Chalán Analuisa

Tutor: David Andrés Terán Mera, PhD.

Co-Tutor: María Fernanda Latorre Barragán, PhD.

Ambato – Ecuador

Noviembre - 2019

APROBACIÓN DEL TUTOR

David Andrés Terán Mera, PhD.

CERTIFICA

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación bajo la modalidad de Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería de Alimentos y Biotecnología, de la Universidad Técnica de Ambato.

Ambato, 04 de Octubre de 2019.



PhD. David Andrés Terán Mera

C.I. 1716569726

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Liliana Consuelo Chalán Analuisa, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográficas.



Liliana Consuelo Chalán Analuisa

C.I. 180464368-0

AUTORA

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

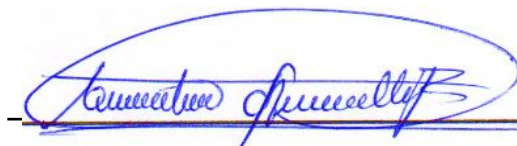


Presidente del tribunal



Ing. Carrera Cevallos Jeanette Verónica, Mg.

C.I. 1716192271



Ing. Villegas Freire Cristina Nataly, Mg.

C.I. 180386307-3

Ambato, 08 de noviembre de 2019

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Trabajo de titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo su reproducción parcial o total dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Liliana Consuelo Chalán Analuisa

C.I. 180464368-0

AUTORA

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida, sabiduría, inteligencia y fortaleza para siempre estar de pie a pesar de las adversidades en mi trayecto de formación profesional, por ser el inspirador para cumplir mis metas.

A mis padres Elvia y Luis por su amor, por ser mi sustento y apoyo incondicional, en cada escalón apoyándome siempre con paciencia, porque sin su sacrificio y trabajo no hubiera podido cumplir mi sueño.

A mis hermanos Mónica, Sabrina, Richard y Carolina, también a mi sobrina Monse que siempre me han apoyado, dándome ánimos para nunca rendirme y seguir adelante para obtener mi profesión.

Liliana Consuelo Chalán Analuisa

AGRADECIMIENTO

A Dios porque más que pedirte, tengo que agradecerte, gracias por darme la vida, por darme todo lo que tengo, por ser quien soy y por estar donde estoy.

A la Universidad Técnica de Ambato y en especial a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, que me han permitido llegar a obtener mi título de Ingeniera en Alimentos.

A todos los docentes que formaron parte de mi formación académica, por brindarme los conocimientos y experiencia profesional.

A doctora Fernanda Latorre, doctor David Terán mis asesores por su orientación y apoyo constante para el logro de este trabajo de investigación y a la doctora Liliana Cerda por su apoyo incondicional, porque en los momentos cuando no sabía que hacer me motivó a seguir adelante, por ser una excelente docente y persona.

A Mg. Cristina Villegas y Mg. Verónica Carrera por su dedicación y tiempo entregado para la revisión de mi trabajo de titulación.

A Jorge Luis una persona muy importante en mi vida, que siempre me brindó su apoyo incondicional y siempre ha estado conmigo en los momentos de alegría y tristeza.

A mis amigas que me brindaron su amistad durante mi trayectoria universitaria Shimita, Ale y Gime, también a mis compañeras/o que aunque no estuvieron desde el principio me han apoyado Karen, Estefy, Erika y Fabricio.

A todas las personas que de una u otra manera contribuyeron con la culminación con éxito de este trabajo de titulación.

Liliana Consuelo Chalán Analuisa

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	iii
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO	iv
DERECHOS DE AUTOR	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT.....	xii
CAPÍTULO I	1
MARCO TEÓRICO.....	1
1.1.1 Antecedentes Investigativos.....	1
1.1.2 Componentes bioactivos	1
1.1.2.1 Antocianinas	2
1.1.2.2 Azúcares.....	2
1.1.2.3 Ácidos Grasos	3
1.1.3 Capulí.....	3
1.1.4 Propiedades bioquímicas del fruto del Capulí	4
1.1.5 Efectos de la congelación en frutas.....	5
1.2 OBJETIVOS	6
1.2.1 Objetivo General	6
1.2.2 Objetivos específicos	7
1.3 Hipótesis	7
1.3.1 Hipótesis nula.....	7
1.3.2 Hipótesis alternativa.....	7
1.4 Señalamiento de variables.....	7
1.4.1 Variable Independiente	7
1.4.2 Variable Dependiente.....	7

CAPÍTULO II.....	8
2 MATERIALES Y MÉTODOS	8
2.1 Materiales.....	8
2.1.1 Materia prima.....	8
2.1.2 Materiales e insumos.....	8
2.1.3 Equipos	8
2.1.4 Reactivos.....	9
2.2 Método	9
2.2.1 Obtención de la materia prima	9
2.2.2 Análisis de la cáscara	10
2.2.2.1 Liofilización de la cáscara del capulí	10
2.2.2.2 Determinación de antocianinas por método espectrofotométrico	10
2.2.3 Análisis de la pulpa.....	11
2.2.3.1 Determinación de sólidos solubles (°Brix).....	11
2.2.3.3 Determinación de acidez titulable.....	12
2.2.3.4 Cenizas	12
2.2.3.5 Azúcares reductores	13
2.2.4 Análisis de la semilla	13
2.2.4.1 Extracción de aceites de la semilla.....	13
2.2.4.2 Identificación de ácidos grasos por cromatografía de gases	14
2.3 Actividad Antibacteriana	15
2.4 Análisis estadístico.....	16
CAPÍTULO III.....	17
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
3.1 Análisis y discusión de los resultados.....	17
3.1.1 Antocianinas	17
3.1.2 Propiedades fisicoquímicas.....	18
3.1.3 Perfil de Ácidos grasos presentes en semillas del capulí	23
3. 1.3 Actividad antimicrobiana.....	26
CAPÍTULO IV.....	29
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	29
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32
ANEXOS	41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Factores y niveles del diseño experimental AxB	16
Tabla 2. Cuantificación de azúcares reductores mg/ml de glucosa en el capulí	22
Tabla 3. Ácidos grasos de la semilla del capulí (<i>Prunus serótina</i>).....	25
Tabla 4. Contenido de grasa en la semilla de capulí.....	42
Tabla 5. Análisis de Varianza para Concentración de Antocianinas monomérica (mg/g)....	44
Tabla 6. Análisis de Varianza para °Brix.....	44
Tabla 7. Análisis de Varianza para pH	44
Tabla 8. Análisis de Varianza para Acidez	44
Tabla 9. Análisis de Varianza para Cenizas.....	45

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Figura 1. Fruto de Capulí (<i>Prunus serótina</i>). Riobamba-Ecuador.....	4
Figura 2. Variación del contenido de antocianinas en la cáscara de capulí en estado fresco y congelado, en las cuatro colectas (nivel de confianza 95%).....	18
Figura 3. °Brix de la pulpa del capulí	19
Figura 4. Medias de pH en pulpa de capulí fresca y congelada.....	20
Figura 5. Porcentaje de Ácido málico en pulpa fresca y congelada de capulí.....	21
Figura 6. Porcentaje de ceniza en pulpa fresca y congelada de capulí.....	21
Figura 7. Gráfico de medias de ácidos grasos Estado vs. Porcentaje de ácido graso en cada colecta. (A) ac. palmítico, (B) ac. Esteárico, (C) ac. Oleico, (D) ac. Linoleico, (E) ac. Alpha-eleostearico, (F) ac. Beta-eleostearico.	25
Figura 8. Curva de resultados <i>Escherichia coli</i> (curva azul relevante es el control positivo y línea roja es el control negativo).....	26
Figura 9. Curva de resultados <i>Listeria monocytógenes</i>	27
Figura 10. Efectividad inhibitoria del extracto de cáscara de capulí	28

RESUMEN

La presente tesis tuvo como objetivo estudiar los componentes bioactivos de cáscara, pulpa y semilla del fruto de capulí (*Prunus serótina*). Se realizó un análisis de frutos colectados en diferentes tiempos de cosecha y se evaluó su estado en frutos frescos y congelados. En la cáscara se analizó contenido de antocianinas y se encontró que el contenido de antocianinas monoméricas en frutos frescos es de 402.39 mg/g \pm 6.11 y en frutos congelados 245.00 mg/g \pm 6.112. El análisis físico químico de la pulpa demostró un valor promedio de sólidos solubles de 20.8 °Brix, 8.84 pH, acidez 0.643 % de ácido málico y 0.7690 % de cenizas, también un alto contenido de azúcares reductores 16.02 mg/ml de glucosa \pm 0.45, estos resultados no presentaron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) entre los estados frutos secos y congelados. En la semilla se analizó los ácidos grasos lo cual resultó un contenido de ácido Palmítico 4.56% y ácido Esteárico 3.30%, Oleico 33.05%, Linoleico 35.57%, ácidos trienos conjugados α -Eleosteárico 23.91% y β -Eleosteárico 3.62%. El efecto antimicrobiano de las antocianinas presentes en la cáscara del capulí fue evaluado usando experimentos en placa y el sistema de detección molecular 3M™. En la detección en placa no se observó actividad antimicrobiana en bacterias gram (+) y gram(-) como: *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli*. Al usar el sistema 3M™ se pudo evidenciar una disminución en la curva de presencia de la bacteria *Listeria monocytogenes* (G^+), mientras que se evidenció la ausencia de *Escherichia coli* 01527.

Palabras claves: Propiedades funcionales de alimentos, capulí, componentes bioactivos, antocianinas, trienos conjugados, actividad antimicrobiana.

ABSTRACT

The present thesis aimed to study the bioactive components of the peel, pulp and seed of the capulí fruit (*Prunus serotina*). An analysis of fruits collected at different harvest times was performed and their status in fresh and frozen fruits was evaluated. The content of monomeric anthocyanins in fresh fruit peels was 402.39 mg / g \pm 6.11 while frozen fruit presented an average of 245.00 mg / g \pm 6.112. The physical chemical analysis of the pulp showed an average value of soluble solids of 20.8 ° Brix, 8.84 pH, acidity 0.643% of malic acid and 0.7690% of ashes, also a high content of reducing sugars 16.02 mg / ml of glucose \pm 0.45, which demonstrated no statistical differences ($P < 0.05$) between the fresh and frozen fruit. In the seed, fatty acids were analyzed, which resulted in a content of Palmitic acid 4.56% and Stearic acid 3.30%, Oleic 33.05%, Linoleic 35.57%, conjugated trienic acids α -Eleostearic 23.91% and β -Eleostearic 3.62%. The antimicrobial effect of anthocyanins in the capuli peel was evaluated using plaque experiments and the 3M™ molecular detection system. In plaque detection, antimicrobial activity could not be observed in gram (+) and gram (-) bacteria such as: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. When using the 3M™ system it was observed a reduction in the presence of *Listeria monocytogenes* (G +) while the absence *Escherichia coli* 01527 was evidenced.

Keywords: Functional properties of foods, capulí, bioactive components, anthocyanins, conjugated trienes, antimicrobial activity.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1.1 Antecedentes Investigativos

1.1.2 Componentes bioactivos

Las plantas poseen fitoquímicos, mismos que podrían mostrar propiedades de interés. Por esta razón, hoy en día muchos compuestos son aislados e introducidos en la práctica médica como medicamentos o suplementos alimenticios, mismos que se caracterizan por ser inocuos y efectivos para el tratamiento o prevención de enfermedades (Al-snafi, 2015; Drago, López, & Sainz, 2006). En la actualidad, el estudio de componentes bioactivos presentes en alimentos ha causado gran interés entre los científicos, siendo los más estudiados los terpenos, flavonoides, antocianinas, proteínas, lípidos, saponinas, taninos y carbohidratos (Borja, 2015). Estos compuestos a más de satisfacer las necesidades nutricionales del individuo, también generan un beneficio sobre la actividad celular previniendo o reduciendo la posibilidad de presentar problemas en la salud en el futuro (Martínez et al., 2011). Existen diversos estudios en los que se presentan distintas metodologías para detallar el principio del diseño estructural de alimentos funcionales y nutraceuticos como es la encapsulación del componente (McClements, Decker, Park, & Weiss, 2009).

Considerando estos beneficios que le atribuyen los distintos componentes bioactivos presentes en los frutos, pueden ser aprovechados, separados y aislados. Con la finalidad de posteriormente utilizarlos en la industria alimenticia, farmacéutica y cosmética.

1.1.2.1 Antocianinas

Las antocianinas son pigmentos vegetales, naturales, inocuos e hidrosolubles que dan una coloración de tonos rojos, magenta, violeta hasta una coloración azul (**Lock, 1997**). Las antocianinas presentan una deficiencia de electrones en su estructura bioquímica, por lo que es reactiva frente a radicales libres presentes en su medio (**Zapata et al., 2014**). Además, los frutos ricos en antocianinas evidencian una alta actividad antioxidante contra la presencia de peróxido de hidrógeno y contra radicales peróxidos. Estas propiedades de las antocianinas las hace beneficiosas para la salud humana. De hecho, se les atribuyen la capacidad de reducir alergias, prevenir enfermedades cardiovasculares y diabetes, poseer efectos antitumorales, antiinflamatorios, anticancerígenos y mejorar la agudeza visual y comportamiento cognitivo (**Castaneda y Guerrero, 2017**).

Las antocianinas están formadas por la unión de dos anillos aromáticos ligados por un anillo pirano. Esto permite la formación de la estructura básica de seis antocianinas que son: pelargonidina, cianidina, delfinidina, peonidina, petunidina y malvanidina. Las diferencias entre estas se produce gracias a la posición del grupo hidroxilo y el grado de metilación (**Zapata et al., 2014**). La antocianina (aglicona) predominante es la cianidina, presente niveles elevados en la cáscara de frutas rojas o que tienen una coloración magenta. Químicamente, La cianidina al unirse con un azúcar forma un enlace β -glucosídico, a esta estructura se la denomina cianidina 3-glucosidosa cuyo espectro de absorción es de 510nm (**Aguilera, Reza, Chew, & Meza, 2015**).

1.1.2.2 Azúcares

El contenido de azúcares libres, hexosas o pentosas, son denominados azúcares reductores, los cuales son glúcidos presentes en frutas. Estas se forman mediante fotosíntesis mientras el fruto alcanza su madurez fisiológica, cuando el almidón se convierte en azúcar (**Armstrong & Bennett, 1982**). Los azúcares reductores al tener en su estructura un grupo aldehído o cetona suelen ser medidos mediante métodos espectrofotométricos (**FAO, 1997**).

1.1.2.3 Ácidos Grasos

Las semillas poseen compuestos lipídicos en mayor porcentaje frente a proteínas, carbohidratos y lípidos que tienen como fuente de reserva (**Jiménez, Masson, & Quitral, 2013**). Los ácidos grasos son fuente nutritiva para la dieta humana. Por ejemplo, un estudio señala que la mora, perteneciente a la familia Rosaceae, posee ácidos grasos comunes como: palmítico, esteárico, oleico, linoleico y linolénico, siendo estos compuestos rentables para la industria alimenticia, farmacéutica y cosmética (**Cerón, Osorio, & Hurtado, 2012**). Los ácidos grasos pueden ser purificados y fraccionados, para la utilización de estos metabolitos con la finalidad emplearlos a nivel farmacológico (**García, Vilorio, Douglas, & Moreno, 2003**).

Los aceites son líquidos aceitosos solubles en alcohol y no solubles en agua; suelen ser mezclas complejas de ésteres, aldehídos, cetonas y terpenos (**Martínez, 2001**). Los aceites son extraídos de diferentes partes de las plantas como flores, yemas, semillas, hojas, ramas, corteza, hierbas, madera, frutos y raíces (**Reyes, Palou, & López, 2014**).

1.1.3 Capulí

Prunus serotina subsp. capulí, cuyo nombre común es capulí, es una especie arbórea que alcanza una altura de 5 a 10 metros en su madurez. Esta especie es nativa de América del Norte pero se encuentra distribuida desde México hasta Bolivia, en áreas entre los 1000 y 3200 metros de altitud sobre el nivel del mar, (**Fresnedo & Muratalla, 2011; Rojas, 2017**). En Ecuador, esta especie crece en el callejón interandino de la sierra, desde la provincia de Carchi en el norte hasta la provincia de Loja en el sur (**Guadalupe et al., 2015**). A pesar de ser común, en el país no se han reportado cultivares establecidos comercialmente. De hecho, este frutal es plantado de manera informal en jardines, parcelas familiares y cerca de las carreteras (**Gordillo, Tobar, Arahana, & Torres, 2015**).

Las flores del capulí se presentan en racimos axilares o terminales de 5 a 20 cm de largo, que contienen entre 10 a 40 flores. Estas son bisexuales, posee dos planos de simetría de 0,6 cm de diámetro, tubo floral urceolado, cáliz conformado por 5 sépalos de forma triangular, corola con 5 pétalos blancos de forma orbicular; androceo conformado por 20 estambres de 3 mm de largo; ovario ínfero pubescente, estigma discoide (**Minga & Navas, 2016**).

El fruto de este árbol es comestible, de forma redonda, globoso con diámetro de 12 a 20 milímetros. Sus semillas son esféricas y rodeadas por un endocarpio hueso leñoso. El capulí es un fruto estacionario de color negro y rojo cuando madura, el tiempo de cosecha varía de enero a mayo dependiendo de las variedades (**Chisaguano, 2012**). Al inicio de su fase de maduración, es de color rojo oscuro luego, adquiere una tonalidad negra rojiza (**Jiménez, Castillo, Azuara, & Beristain, 2013**). Aunque en Ecuador, el fruto del capulí es usado como una fuente alimenticia, el estudio de sus propiedades nutritivas es limitada (**Alveano, Rojas, Oomah, & Drover, 2011**).



Figura 1. Fruto de Capulí (*Prunus serotina*). Riobamba-Ecuador

1.1.4 Propiedades bioquímicas del fruto del Capulí

Blando, (2004); Márquez, (2011) y Zapata et al., (2014) estudiaron las propiedades químicas del fruto de *Prunus cerasus* (cereza), *Prunus domestica* (ciruelo europeo), *Prunus serotina* (capulí) y el *Vaccinium corymbosum* (arándano) y llegaron a la conclusión que los frutos de la familia *Prunus* son ricos en antocianinas. **Rojas (2017)** cuantificó las antocianinas de la cáscara del fruto del capulí (*Prunus serotina*) obteniendo que la antocianina predominante y en un 66% la cianidina 3-glucósido.

Estudios basados en ensayos con extractos y aceites esenciales de ciertas frutas han comprobado mediante diferentes métodos de evaluación la actividad inhibitoria sobre agentes microbianos, estos métodos para evaluar la eficacia de antimicrobianos naturales fueron; contacto directo, fase vapor, determinación cualitativa y

cuantitativa de los componentes químicos de los aceites esenciales (**Reyes et al., 2014**).

Bak et al., (**2019**) realizaron un estudio con los extractos de las semillas de la cereza (*Prunus cerasus*), encontrando ácidos grasos insaturados como oleico α -tocoferol, tocotrienoles y componentes semejantes a los tocoferoles. Aprovechando estos componentes, realizaron un experimento en ratas en las que evaluó el mecanismo cardioprotector de los extractos contra el daño inducido por isquemia-reperfusión en corazones de ratas aisladas. Buscando aprovechar todo el fruto y sin desaprovechar los beneficios de los aceites **Alveano et al., (2011)**, realizó un estudio en el que cuantificó los ácidos grasos que tiene la semilla de capulí (*Prunus serotina*) que fueron componentes altamente poliinsaturados, abundante en ácidos oleicos (35%), α -elostearicos (27%), linoleicos (27%), palmíticos (4%), esteáricos (4%) y β -elostáricos (1%).

Estudios realizados en la familia *Prunus* mostraron que estas plantas poseen propiedades antimicrobianas y antifúngicas. **Seyyednejad, Maleki, Damab, & Motamedi, (2008)** analizó el extracto de *Prunus mahaleb* diluido en etanol por medio de la metodología de difusión en disco de agar. Como resultado, encontraron que dicho extracto posee actividad antibacteriana contra: *Bacillus anthracis*, *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B.licheniformis*, *Brucella melitensis*, *Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis* y *Pseudomonas aeruginosa*. Además, los extractos de *Prunus spinosa* (**Gegiu et al., 2015**) demostraron actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (**Álvarez, Rozo, & Reyes, 2015**). Los extractos de *Prunus salicina* produjeron la inhibición de crecimiento de *Listeria monocytogenes* además de *E. coli* y *S. aureus*. Asimismo, Jiménez, Castillo, Azuara, Beristain (**2011**) realizaron un estudio de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos (pulpa y cáscara) de capulí obteniendo resultados favorables contra bacterias gram (-) como *Salmonella typhimurium*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Los resultados en estos estudios demuestran que las especies de familia *Prunus*, tienen potencial como inhibidores bacterianos.

1.1.5 Efectos de la congelación en frutas

La ultracongelación, es una forma de conservación en frío, en la que se puede emplear diferentes mecanismos como el Individual Quick Freezing (IQF) para la

congelación de un alimento pequeño, que utiliza la corriente de aire a bajas temperaturas (inferior a -40 °C) para que las moléculas de los alimentos se congelen en un menor tiempo. De esta forma mantiene la textura y una rápida inactivación de los procesos enzimáticos, obteniendo una máxima calidad en la congelación del alimento (**Heldman & Singh, 2009**). Este método de conservación permite obtener frutas y verduras que están fuera de temporada con las mismas características como vitaminas y propiedades organolépticas (**Tronco, 2017**).

Este proyecto propone examinar la composición química de la cáscara, la pulpa y la semilla del capulí con el fin de aportar con información sobre los agentes nutritivos presentes en este fruto. Considerando que este fruto es de temporada y puede ser cosechado solamente en los cuatro primeros meses de año, el presente estudio analiza los efectos de la ultracongelación en las propiedades bioquímicas del fruto. De esta manera, estudiar la viabilidad de la ultracongelación para mantener estos frutos a mediano plazo. Además, describir los potenciales beneficios del consumo y extracción de nutrientes en el campo de la salud y desarrollo de nuevos productos. Finalmente, este trabajo de investigación estudia el potencial antimicrobiano de los extractos de la cascara de capulí en estado fresco y congelado, mediante dos metodologías; empleando el sistema de detección molecular 3M™ y la prueba de disco en placa para bacterias gram (+): *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*, y bacterias gram (-) como: *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo General

Determinar el contenido de antocianinas, azúcares y ácidos grasos presentes en el capulí (Rosaceae: *Prunus serótina*) y analizar la capacidad antimicrobiana como una propiedad funcional del fruto en estado fresco y congelado

1.2.2 Objetivos específicos

- Determinar las antocianinas presentes en la cáscara, los azúcares en la pulpa y los aceites en la semilla del fruto en diferentes tiempos de recolección
- Evaluar los efectos de ultracongelación sobre el contenido de antocianinas en la cáscara, azúcares en la pulpa y grasa en la semilla por separado de los elementos del capulí
- Examinar el potencial antimicrobiano de los compuestos extraídos del capulí en estado fresco y en congelación

1.3 Hipótesis

1.3.1 Hipótesis nula

Ho: El contenido de antocianinas, azúcares y ácidos grasos presentes en el capulí (Rosaceae: *Prunus serótina*) y la capacidad antimicrobiana del fruto no varían en el estado fresco y congelado.

1.3.2 Hipótesis alternativa

H1: El contenido de antocianinas, azúcares y ácidos grasos presentes en el capulí (Rosaceae: *Prunus serótina*) y la capacidad antimicrobiana del fruto varían en el estado fresco y congelado.

1.4 Señalamiento de variables

1.4.1 Variable Independiente

Tiempo de colecta del fruto de capulí (primera, segunda, tercera y cuarta).

Cáscara, pulpa y semilla del capulí (Rosaceae: *Prunus serotina*) en estado fresco y congelado.

1.4.2 Variable Dependiente

Estudio de las propiedades funcionales

CAPÍTULO II

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materiales

2.1.1 Materia prima

Capulí

2.1.2 Materiales e insumos

Desecador

Micropipetas

Puntas plásticas

Vasos de precipitación 100 ml

Erlenmeyer de 125 ml y 500 ml

Picetas

Tubos de ensayo con tapa rosca

Cajas petri

Fundas ziploc

Marcador

Lámpara de alcohol

Tubos falcon de 25ml y 50 ml

Tubos eppendorf

2.1.3 Equipos

Potenciómetro (Mettler Toledo)

Refractómetro

Incubadora

Autoclave

Secador de Bandejas (Gander MTN)

Cabina de flujo laminar

Agitador magneto

IQF (Individual Quick Freezing)

Extractor de aceites (Velp científica)

Balanza de infrarrojo (Kern510)

Balanza analítica (Mettler Toledo)

Titulador electrónico (Mettler Toledo)

Rotavapor (IKA-RV8)

Agitador de tubos eppendorf

Detector molecular 3M™

Plancha de calentamiento 3M™

2.1.4 Reactivos

Alcohol	Hexano grado cromatográfico
Agua destilada	KOH 0.5 M metanólico
Agua Miliq	HCl 1:4 v/v
NAOH 0.1 N valorada	Ácido clorhídrico HCl
Éter de petróleo	DNS
Etanol 96°	DMSO 0,01 %

2.2 Método

2.2.1 Obtención de la materia prima

El capulí (*Prunus serótina*) se obtuvo del barrio Primero de Mayo del cantón Riobamba de la provincia de Chimborazo. Se realizaron cuatro colectas durante los meses de fructificación. En total se realizaron cuatro colectas, las cuales fueron llevadas a cabo durante los meses de Enero a Abril, fecha de cosecha del fruto del capulí (**Chisaguano, 2012**). La primera cosecha del capulí se realizó el 22 de enero, la segunda el 11 de febrero, la tercera el 06 de marzo y la cuarta el 02 de abril. Las características que se consideraron para colectar los frutos fueron las siguientes: tamaño, color (negro rojizo) y grado de madurez comercial. Una vez colectado el material se transportó al laboratorio, en recipientes de plástico para evitar oxidación y daños físicos.

El trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de canje de deuda, UODIDE de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y en el laboratorio de investigación de la Facultad de Ciencias de la salud.

El material colectado fue lavado y secado, posteriormente se dividió en dos porciones iguales. La primera porción se congeló usando el sistema de congelamiento rápido individual IQF (Individual Quick Freezing) marca Dartico modelo DIQF361. El proceso de congelamiento se realizó en un tiempo de 20 minutos. En el lapso de este tiempo, los frutos fueron colocados en una funda

plástica Ziploc y almacenados en ultracongelación a -80°C en un ultra congelador marca BINDER (Pérez, Cuéllar, & Donoso, 2003).

La otra mitad de frutos colectados fueron cortados individualmente para separar semillas, pulpas y cáscaras. La cáscara y la pulpa se congeló usando el sistema IQF y se almacenó a -80°C para su posterior procesamiento en el liofilizador. Por otra parte, las semillas fueron secadas usando un secador de bandejas Gander MTN.

2.2.2 Análisis de la cáscara

2.2.2.1 Liofilización de la cáscara del capulí

Para el obtención de las muestras liofilizadas (cáscara) se empleó el equipo Virts Scientifica modelo (Zise E8 serie: 319505) con capacidad de 3.5 L. Las muestras congeladas a -80°C de cada colecta. Se colocaron en frascos estériles y cubiertas de papel filtro. Posteriormente, fueron llevadas al equipo, en el cual se mantuvo por tres días bajo condiciones constantes las cuales fueron: temperatura menor a -60°C y presión de vacío de 31 mT (Muñoz et al., 2017).

2.2.2.2 Determinación de antocianinas por método espectrofotométrico

Para la determinación del contenido de antocianinas se utilizó la cáscara liofilizada, ya que las antocianinas son flavonoides responsables del color de la cáscara del fruto. Primero, se pesó 1.5 gramos de la muestra liofilizada en la balanza (Mettler Toledo) y se mezcló con 50 ml de disolvente 85:15 (Etanol/0.1N HCl) según el procedimiento descrito por Hucl & Abdel, 1999 con algunas modificaciones. Las muestras junto con el disolvente se depositaron en un matraz Erlenmeyer Pyrex de 150ml. Después, se llevó a la plancha de calentamiento, verificando que la temperatura de la muestra este en el rango de 68°C a 72°C durante 1 hora. Las muestras fueron centrifugadas en la centrífuga Rotina 380 marca Hettich zentrifugen en tubos falcon de 15 ml, a condiciones de 3000 rpm por 10 minutos. Los sobrenadantes fueron almacenados y refrigerados en recipientes de vidrio ámbar (Jiménez, Castillo, Azuara, Beristain, 2011). Para la determinación de la absorbancia, el sobrenadante se diluyó en soluciones buffer de cloruro de potasio 0.025M (pH 1.0) y acetato de sodio 0.4M (pH 4.5), las dos diluciones fueron

analizadas a longitudes de onda de 520nm y 700nm usando el espectrofotómetro Fisher Scientific modelo accusKan 60 (Eisele et al., 2005).

El cálculo de la concentración de antocianina monomérica fue analizada de acuerdo a la Ecuación 1 y 2 (Brito et al., 2014).

$$A = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH 1.0}} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH 4.5}}$$

EC. 1

$$[\text{Antocianina monomérica}] \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) = \frac{A * PM * DF * 10^3}{\epsilon * l}$$

EC. 2

Dónde:

A: Absorbancia

PM: peso molecular de la antocianina predominante cianidina (449.2 g/mol)

DF: Factor de dilución (50)

l: longitud de la cubeta en cm

ϵ : Absortividad molar (26900 L/mol*cm)

10^3 : Factor para convertir g en mg

2.2.3 Análisis de la pulpa

2.2.3.1 Determinación de sólidos solubles (°Brix)

Los sólidos solubles fueron determinados usando un refractómetro digital. Para esto, se colocó la muestra temperada a 20°C en la superficie del prisma, de manera que se cubrió completamente y se registró el resultado (Restrepo, Cortés, Rojano, 2009).

2.2.3.2 Determinación de pH:

Para analizar el pH se utilizaron 10 gramos de pulpa completamente triturada usando un mortero. El electrodo del medidor de pH marca Mettler Toledo fue intruducido en la muestra y se registró el pH de cada muestra (AOAC 981. 12,2000).

2.2.3.3 Determinación de acidez titulable

Para la determinación de la acidez se usaron 2.000 gramos de pulpa triturada, disuelta en 40 ml de agua destilada. Posteriormente, se tituló con NaOH 0.1 N en el Titulador Potenciométrico Metter Toledo marca LabX® ready modelo G20 Compact Titractor que valoró potenciométricamente hasta pH 8.3 (Álvarez et al., 2015).

El cálculo de la acidez titulable fue analizada de acuerdo a la Ecuación 3 (Parra et al., 2007).

$$\%Acido\ málico = \frac{V_{NaOH} * N_{NaOH} * Meq_{ácido}}{C} * 100$$

EC. 3

Dónde:

V_{NaOH} : ml gastados de NaOH 0.1N en la titulación

N_{NaOH} : Normalidad del NaOH 0.1N

$Meq_{ácido X}$: Miliequivalentes del ácido dominante (ácido málico 0.067 g/meq)

C: masa en gramos de la muestra utilizada

2.2.3.4 Cenizas

El contenido de cenizas se obtuvo siguiendo la Norma INEN 0520, (1980). En la metodología consistió en la incineración de 5 g de muestra que fueron colocados en un crisol vacío previamente tarados y pesados con aproximación de 0.1 mg, se colocaron en una mufla a 550 °C por 2 horas. Posteriormente se colocó en un desecador hasta obtener un peso constante.

El porcentaje de cenizas se obtendrá mediante la Ecuación 4:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{Peso de cenizas (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} * 100$$

EC. 4

2.2.3.5 Azúcares reductores

Para la determinación de azúcares reductores en la pulpa, se empleó el procedimiento propuesto por (Miller, 1959). Los azúcares reductores pueden reducir al ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) bajo determinadas condiciones. Cuando el ácido 3,5-dinitrosalicílico es reducido en presencia de calor, por los azúcares reductores que entran en contacto con él, se desarrolla un cambio de color (con variaciones de amarillo hasta marrón). El cambio de coloración puede determinarse por lecturas de densidad óptica.

Primero, se diluyó la pulpa triturada en un mortero 1/100 en 10 ml. En tubos eppendorf se mezcló 50µl de la dilución más 50 µl de DNS. Después, los tubos fueron incubados a 99.5°C por 5 minutos para que se forme la reacción. Transcurrido este tiempo, se colocó en hielo por 5 minutos y se adicionó 250 µl de H₂O_{mq}. Se centrifugó la mezcla a 4°C 13000rpm por 5 minutos. Finalmente, las absorbancias fueron leídas por espectrofotometría a una longitud de onda de 540nm.

2.2.4 Análisis de la semilla

2.2.4.1 Extracción de aceites de la semilla

Para el correcto secado, se retiraron restos de pulpa adheridos a la semilla. Posteriormente, fueron llevadas al secador de bandejas Gander MLN en el que se dejó correr el proceso durante 8 horas a 60 °C. Una vez transcurrido este tiempo, se separó el germen de la cubierta. El germen se trituró para la extracción del aceite y se determinó la humedad usando la balanza de infrarrojo Kern modelo MLB 50-3N (Tapia, Pérez, Cavazos, & Mayett, 2013).

La extracción de aceites se realizó en el equipo marca Velp científica. Este proceso se llevó a cabo usando vasos Velp científica y cartuchos. Los vasos del equipo se lavaron y secaron en la estufa a 100 °C por 1 hora, fueron llevadas hacia el desecador con la ayuda de pinzas metálicas y se dejó hasta que se enfríe por 20 minutos. Se registraron los pesos de vasos y cartuchos, el peso de la muestra fue de 5 gramos. En el vaso se adicionaron 100 ml de solvente (Éter de petróleo), se llevó la mezcla al extractor, donde permaneció 3 horas en inmersión, 3 horas en lavado y se recuperó el solvente durante 30 minutos. Los vasos con el aceite fueron llevados a la estufa a 90°C por 2 horas para que se evaporen los restos del solvente. Se dejaron los vasos en el desecador y se registró el peso del vaso más los ácidos grasos de la muestra. El porcentaje de ácidos grasos en el germen del capulí fue calculado con respecto a la siguiente formula (**Martinez, 2003**).

El porcentaje de ácidos grasos, se obtuvo de acuerdo a la ecuación 5 (**Nielsen, 2016**).

$$\%Materia\ grasa = \frac{m_2 - m_1}{m} * 100$$

EC. 5

m= peso de la muestra

m₁= peso de la tara del vaso solo

m₂= peso del vaso más grasa

2.2.4.2 Identificación de ácidos grasos por cromatografía de gases

Del aceite extraído de la semilla del capulí (*Prunus serótina*), la identificación del perfil de ácidos grasos se realizó la extracción de esteres metílicos usando el procedimiento propuesto por **Medina, (2014)**. Posteriormente, se identificó el contenido de ácidos grasos utilizando la inyección de ésteres metílicos de ácidos grasos empleando el sistema de Agilent Technologies 7980A. Este es un equipo de cromatografía de gases (Agilent, Santa Clara, CA) equipada con un detector selectivo de masas 5977A GC / MSD, Agilent Santa Clara, CA), un inyector automático 7693 y una columna (60 m × 250 μm × 0.2μm, Agilent 122–88867 UOITA). La Rampa de temperatura del horno 2: a 200°C a 25°C / min durante 10 minutos; rampa 3: a 250°C

a 2°C / min durante 53 minutos. Las temperaturas del inyector y del detector se fijaron a 250°C y 13.8 psi de presión. Se empleó helio a velocidad de flujo lineal de 0.7mL / min como gas portador.

2.3 Actividad Antibacteriana

2.5.1 Detección molecular

Se usaron 3 tubos preparados con la solución de lisis, los cuales fueron activados en la plancha de calentamiento 3M™ a 100°C ±1°C durante 30 segundos, luego se agitó la caja con los tubos por 3 veces y se llevaron a la cámara de flujo laminar. Posteriormente, a cada tubo se le agregó 20 µl de muestra; tubo 1 (cepa pura), tubo 2 (cepa+extracto de cáscara de capulí) y tubo 3 (agua purificada), los tubos se llevaron a la plancha de calentamiento 3M™ a 100°C ±1°C durante 15 minutos, para detener la reacción los tubos se enfriaron en el bloque frío 3M durante 10 minutos, seguidamente se agitó la caja con los tubos por 5 veces, se golpeó sobre la mesa por 3 veces y se dejó reposar por 5 minutos. Se destaparon los tubos y de forma inclinada verificando que no existan burbujas se tomaron 20 µl y se colocó en los pellets de reacción específicos para las bacterias *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes*, el tubo 3 se utiliza para el control negativo y control positivo. Se programó el equipo 3M™ Molecular Detection System 2.2.0 para el análisis de las dos bacterias y se esperó 75 minutos para obtener los resultados (Bird et al., 2013; Loff et al., 2014).

2.5.2 Detección en placa

Para evaluar la actividad antibacteriana se emplearon cepas de *Escherichia coli* ATCC, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Listeria monocytogenes*. El procedimiento se realizó en 4 días. El primer día se sembraron las bacterias en 5 ml en el medio Brain Heart Infusion (BHI) y se incubaron a 37°C por 24 horas. El segundo día se inocularon las bacterias en 5 ml de medio de cultivo en un matraz Erlenmeyer con 250 ml de medio BHI puro y se incubó a 37°C por 24 horas. El tercer día, se trasvasó el volumen necesario del medio BHI con la bacteria a un matraz Erlenmeyer conteniendo 225 ml con medio BHI puro. Posteriormente, se analizó la absorbancia hasta el rango entre 0.100 ± 0.003 a longitud de onda de 600nm en un espectrofotómetro Fisher. Posteriormente se realizó el antibiograma

Mueller-Hinton, para esto se utilizó 100µl del cultivo con absorbancia entre 0.100 ± 0.003 , este volumen fue descargado sobre el agar Mueller- Hinton, se realizó una siembra masiva (realizando movimientos en forma espiral, hasta formar un césped) sobre la superficie, para lo cual se utilizó hisopos estériles. Posteriormente, se hizo discos empleando sorbetes estériles de 6 mm de diámetro alrededor de la caja, y en el centro se dispuso de un control (diluyente dimetilsulfóxido DMSO). Finalmente se fijó 20 µl del extracto de la cáscara con el diluyente DMSO 0.1% (v/v) en los discos y se incubó las placas a 37°C durante 24 horas. El cuarto día se verificó la actividad antibacteriana con la presencia de halos de inhibición (**Núñez, 2019**).

2.4 Análisis estadístico

En el estudio se aplicó el diseño estadístico factorial AxB con tres réplicas, donde los factores a evaluar fueron: estado fresco/ congelado y tiempo en el que se realizó la colecta del fruto para las pruebas en la cáscara, pulpa y semilla. Las variables de estudio y sus niveles se indican a continuación.

Tabla 1. Factores y niveles del diseño experimental AxB

Factores	Niveles
A: Estado	a1: Fresco
	a2: Congelado
B:Tiempo de colecta	b1: Primera
	b2: Segunda
	b3: Tercera
	b4: Cuarta

Los análisis de resultados de la investigación fueron analizados en el programa Statgraphichs Centurion, utilizando un ANOVA multifactorial con 95% de confianza.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y discusión de los resultados

3.1.1 Antocianinas

Las antocianinas son pigmentos que dan la coloración negro-rojiza a la cáscara del capulí, estos han sido analizados por sus capacidades bioquímicas en el beneficio de la salud. La tabla de Anova multifactorial (Anexo 3) muestra que existe diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) en el contenido de antocianinas monoméricas entre el estado fresco y congelado de las frutas. Esto puede darse ya que durante el proceso de congelado y descongelado del fruto, produce impregnación del pigmento en la pulpa. En el Anexo 1 se puede observar esta coloración de la pulpa en los frutos descongelados, lo cual no se observó en los frutos frescos.

En cuanto a los tiempos de colecta, se puede observar una diferencia significativa ($P < 0.05$), no obstante, al recolectar los frutos se consideró características similares como tamaño, forma, color y grado de madurez comercial. La **figura 2** muestra la diferencia significativa ($P < 0.05$) que existe en la interacción entre los factores, estado y colecta; siendo la segunda colecta en estado fresco la que presenta mayor contenido de antocianinas con 388,98 mg/g. La media global del contenido de antocianinas monoméricas es de 349.5mg/g, lo cual es comparable con el contenido que presentan los frutos de la familia *Prunus*. Según **Horbowicz et al., (2008)** mencionan que el

contenido total de antocianinas en cereza (*Prunus cerasus*) varía entre 4-450 mg de antocianina/ 100g, y **Márquez, (2011) & Wrolstad et al., (2002)** la ciruela (*Prunus domestica*) con 39.92 mg de antocianina/100g, cabe mencionar que estos estudios se basaron en la utilización del fruto completo. Esto demuestra que existen similitudes entre los frutos de diferentes especies de la misma familia cuya coloración es negra-rojiza. Esto puede deberse al nivel de madurez al momento de la colecta o por el exceso de agua en el suelo que son factores que afectan la calidad de los frutos (Parra et al., 2007), también la variación de en las colectas se puede dar por la luminiscencia en la maduración de fruto (**Chaar & Sánchez, 2010**).

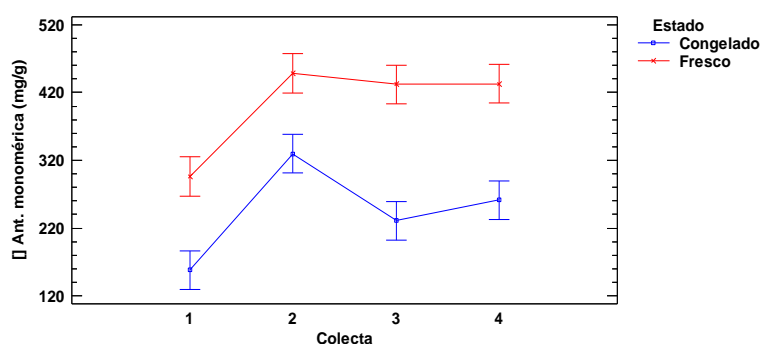


Figura 2. Variación del contenido de antocianinas en la cáscara de capulí en estado fresco y congelado, en las cuatro colectas (nivel de confianza 95%).

3.1.2 Propiedades fisicoquímicas

Las propiedades fisicoquímicas de las frutas son importantes, pues son utilizadas como ingrediente natural en la elaboración de productos alimenticios (**Vila, 2006**). En la **figura 3** se muestra los sólidos solubles (°Brix) obtenidos en el análisis de la pulpa, en este resultado no observan diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$) en el estado fresco y congelado. Es decir, el fruto en congelación presenta un cambio mínimo en sus características sensoriales y nutritivas, mientras que sus propiedades fisicoquímicas como los sólidos solubles no se ven alterados, puesto que la congelación es un método para prolongar el tiempo de vida útil de los alimentos (**Vila, 2006**). La **tabla 6** de Anova (Anexo 4) y la **figura 3** muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) en los tiempos de colecta. Los resultados obtenidos presentaron una media global °Brix fresco y congelado para la primera colecta 20.02 °Brix, segunda 21.31 °Brix, tercera 20.05 °Brix y cuarta 22.07 °Brix. **Poll &**

Barixtofte, (2003) mencionan que al analizar el contenido de sólidos solubles durante 3 años presentó un patrón característico en la temporada de cosecha, mientras que al principio y final de la temporada de cosecha los componentes disminuyeron en (*Prunus cerasus*). Los sólidos solubles obtenidos por **Poll & Barixtofte, (2003)** fueron de 16-28 Brix en el estudio de la influencia del año y tiempo de cosecha en sólidos solubles en cereza agria (*Prunus cerasus L. cv. "Stevnsbær"*), lo que indica que los sólidos solubles del capulí están en este rango. Sin embargo, en los tiempos de cosecha existe variación esto porque tal vez la madurez del fruto no fue óptima. Por este motivo, este fruto tiene valor para la industria de procesamiento por su alto contenido de azúcar. Además **Villarroel, (2008)** en la guinda (*Prunus cerasus*) de acuerdo al análisis físico-químico muestra que este fruto tiene 26°Brix. A pesar de no existir una normativa específica para el capulí se ha tomado como referencia frutos perteneciente a la familia *Prunus*, por ello la normativa **CODEX STAN 247, (2005)** para *Prunus cerasus* y *Prunus doméstica*, indica que el valor mínimo de sólidos solubles varía entre 17.0 - 20.0°Brix. Por el elevado contenido de azúcares se podría emplear la pulpa, para la elaboración de azúcar granulada, similar a la propuesta por **Deloire, (2011)** con la cereza.

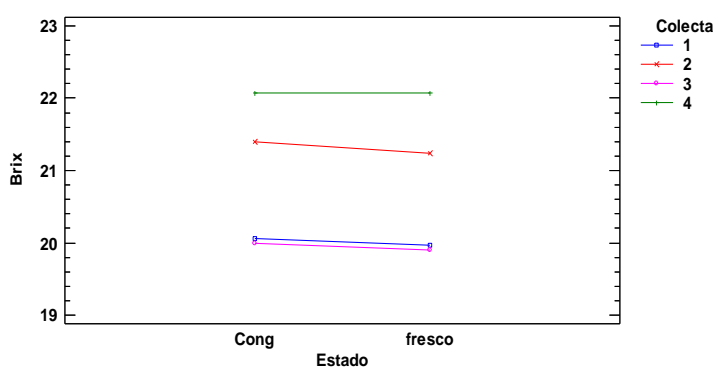


Figura 3. °Brix de la pulpa del capulí

Análisis de pH

La **tabla 7** (Anexo 4) Anova indica que no existe diferencia significativa ($P > 0.05$) en el factor estado (fruto fresco y fruto congelado), la media global fue de 4.84pH en

estado fresco y congelado. Por otro lado, existe diferencia significativa ($P < 0.05$) entre el tiempo de la colecta (primera, segunda, tercera y cuarta), ya que mientras empieza la temporada de cosecha del fruto aumenta el valor de pH. Los resultados fueron 4.7, 4.79, 4.91 y 4.94 pH respectivamente para las cuatro colectas. **Villarroel, (2008)** reportó el valor de 5.02 de pH en frutos de la familia *Prunus*.

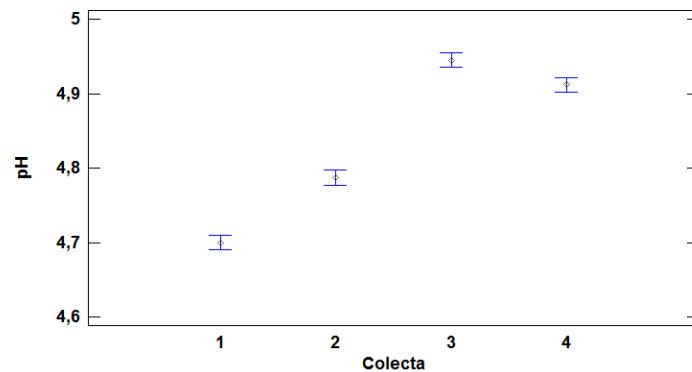


Figura 4. Medias de pH en pulpa de capulí fresca y congelada

Acidez titulable (AT)

El acidez es un parámetro apropiado para determinar el tiempo óptimo para la cosecha, el ácido predominante en la familia *Prunus* es el ácido málico **Lobit, Genard, Soing, & Habib, (2006)**. La **figura 5** demuestra el porcentaje de ácido málico en los frutos del Capulí. Las muestras presentan diferencias significativas ($P < 0.05$), en los dos factores estado (fresco y congelado), colecta (primera, segunda, tercera y cuarta) y también en la interacción entre estado y colecta. **Parra, Hernández, & Camacho, (2007)** al evaluar la calidad de la ciruela (*Prunus domestica l.*) bajo tres temperaturas de almacenamiento en refrigeración, obtuvieron resultados en un rango de 0.39% - 0.84% de AT. Además **Villarroel, (2008)** en el fruto guinda (*Prunus capulí*) & **Poll & Barixtofte, (2003)** en la cereza (*Prunus cerasus*) obtuvieron resultados similares en un rango de 0.70%-0.85%. El porcentaje de ácido málico obtenido tiene una media global de estado fresco y congelado en las colectas primera 0.6678%, segunda 0.6271%, tercera 0.6415% y cuarta 0.6356%.

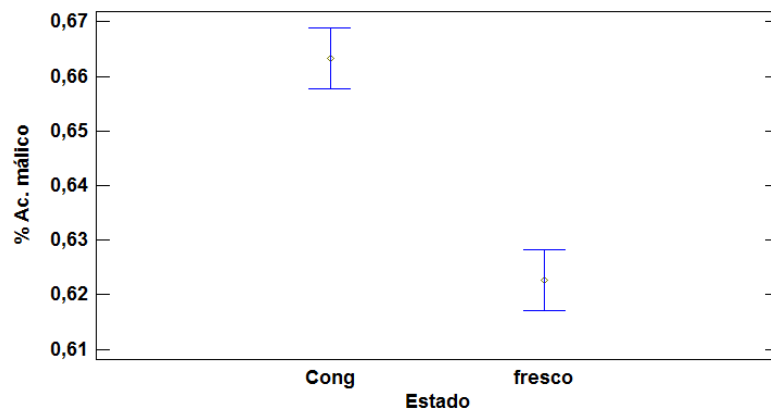


Figura 5. Porcentaje de Ácido málico en pulpa fresca y congelada de capulí

Cenizas

La **tabla 9** (Anexo 4) Anova indica que no existe diferencia significativa ($P > 0.05$) en cuanto al estado fresco y congelado, con una media global del porcentaje de cenizas 0.7624 ± 0.01 . En las colectas se obtuvo un valor de $P < 0.05$ por lo que se determina que existen diferencias significativas. El porcentaje de cenizas para la primera colecta fue de 0.6587, segunda 0.7448, tercera 0.8327 y la cuarta colecta de 0.8401. **Nielsen, (2016)** afirma que para pulpas de frutas frescas el porcentaje de cenizas tiene un rango de 0.2%-0.6%.

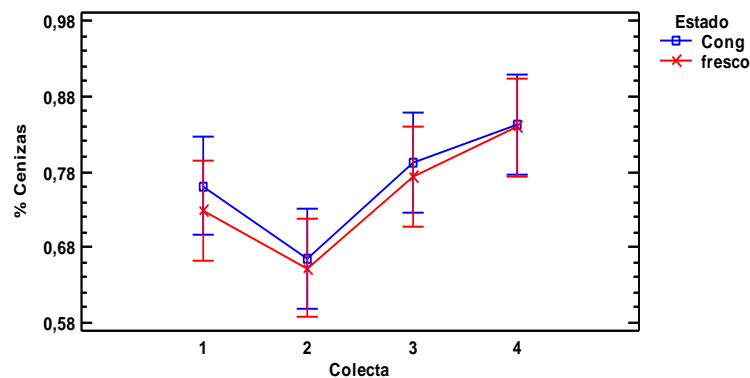


Figura 6. Porcentaje de ceniza en pulpa fresca y congelada de capulí

Arenales, Sandoval, Ramírez, & Victorino, (2015) realizaron geles a partir de pulpa de cerezo (*Prunus virginiana*) aprovechando las propiedades físico-químicas del fruto. Además, desarrollaron biopolímeros naturales, mencionando que es una

alternativa en la elaboración de golosinas empleando como ingrediente la pulpa de la fruta.

Azúcares reductores

La **tabla 2** muestra diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) entre las colectas, dado que al pasar el tiempo los frutos se maduran y poseen mayor contenido de azúcares. Mientras que no existe diferencia significativa ($P > 0.05$) para el estado, fresco y congelado. Estos resultados indican que la congelación no influye en el contenido de azúcares. Para la cuantificación del contenido de azúcares reductores, se utilizó como estándar glucosa (10-100 mg/mL), como se muestra en el Anexo 2. **Miller, (1959)** propone la metodología para la determinación de azúcares reductores, en la que el medio álcali realiza una acción reductora del glucosa sobre el ácido dinitrosalicílico. **Villarreal, (2008)** realizó la cuantificación de azúcares reductores en la guinda perteneciente a la familia Rosaceae en la que obtuvo un valor de 33.33mg de glucosa/ml, que es un valor diferente a la del capulí. Sin embargo, esta variación puede ser debido a factores como el contenido de vitamina A, vitamina C, además como las condiciones, ubicación geográfica y clima en el que se dio el fruto (R. Á. Núñez et al., 2012). La concentración de glucosa obtenida por **Morales, (2007)**, en *Prunus doméstica* y *Prunus pérsica* perteneciente a la familia Rosaceae fue de 17.29 mg/ml y 11.61mg/ml de glucosa respectivamente, siendo este resultado cercano al obtenido en este estudio (**tabla 2**).

Tabla 2. Cuantificación de azúcares reductores mg/ml de glucosa en el capulí

Colecta	Fresco	Congelado
Primera	14.27±0.26 ^a	13.13±0.14 ^a
Segunda	17.00±0.41 ^b	14.92±0.42 ^b
Tercera	18.84±0.61 ^c	19.88±0.59 ^c
Cuarta	13.96±0.50 ^d	13.74±0.63 ^d

^{a,b,c,d} Superíndices letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa entre las colectas prueba de Tukey ($p < 0.05$).

3.1.3 Perfil de Ácidos grasos presentes en semillas del capulí

Las semillas son ricas en ácidos grasos, y se clasifican en grasas saturadas, monoinsaturadas y poliinsaturadas. Las grasas insaturadas pertenecen a un grupo especial conocido como omega (**Altuna et al., 2018**). Mediante la identificación por cromatografía de gases se pudo determinar que la semilla de capulí posee un perfil rico en ácidos grasos el cual se demuestra en la **tabla 3**.

El análisis de ANOVA multifactorial (dos factores) demuestra que existen diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) entre las muestras sobre las variables estado (fresco y congelado) y la fecha de colecta. En la **tabla 3**, se observa el porcentaje de área del pico en los diferentes estados y colectas. Los porcentajes de área del pico que poseen los ácidos grasos que componen del aceite de capulí son: ácido palmítico, el ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoléico, ácido α -eleosteárico y ácido β -eleosteárico. Para el ácido esteárico no existe diferencia significativa ($P > 0.05$) entre la interacción entre estados y colecta, a diferencia de la interacción de los demás aceites, la interacción entre estados y colecta presento diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

Las semillas frescas presentan un mayor porcentaje de ácidos grasos, a diferencia de los ácidos grasos conjugados estos están en mayor porcentaje en las semillas frescas. **Barrero & Bello, (2001)** indican que pueden ocurrir cambios en el porcentaje de lípidos, debido a la hidrólisis de los fosfolípidos aumentando los ácidos grasos libres. Los resultados obtenidos en el estudio indican que a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento, aumenta el porcentaje de ácidos grasos. Que coincide con los resultados obtenidos por **Wang et al., (2019)** esto ocurre por la degradación de ácidos grasos, por lo que se evidencia el incremento de ácidos polienólicos y disminución de fosfolípidos, como resultado el aumento de ácidos grasos libres.

Alveano et al., (2011) realizó ensayos en semillas de capulí aplicando diferentes tratamientos como tostado y sin tostar, y empleando como solvente hexano y fluidos supercríticos. Aplicando estas técnicas, obtuvieron ácidos grasos de capulí con porcentaje de 35.3% oleico, palmítico 4.3%, esteárico 4%, linoleico 26.6 %, β -eleosteárico 1% y α -eleosteárico 26.7%. Estos resultados coinciden con los encontrados por **Deineka, Gabruk, Deineka, & Manokhina, (2002)**, quienes emplearon HPLC con detección de índice de refracción para estudiar algunas

especies de la familia Rosáceae. Los ácidos grasos que encontraron fueron palmítico, esteárico, oleico, linoleico y α -eleosteárico en diferentes porcentajes. **Bernardo, Oneto, Antunes, Rodrigues, & Empis, (2001)** reportaron que la cereza dulce (*Prunus avium*) posee los ácidos grasos: palmítico 6.02%, esteárico 2.41%, oleico 32.64% linoleico 41.05% y eleosteárico 10.48%. Los resultados de estas investigaciones mencionadas confirman los datos obtenidos en este estudio.

En el perfil de la semilla de capulí indica que posee dos ácidos grasos saturados, palmítico y esteárico que en exceso se considera un riesgo para la salud. Aunque **Clandinin, Cook, Konard, & French, (2000)** señala que el ácido palmítico en combinación con el ácido linoleico, no ejerce un efecto de aumento del colesterol, por tanto, tiene aplicaciones prácticas en la industria alimentaria. Se ha demostrado que el ácido linoleico es benéfico para pacientes que padecen de hipertensión ya que puede reducir la presión arterial y agregación plaquetaria, lo cual previene accidentes cerebrovasculares. Asimismo, los ácidos oleico, linoleico, α -eleosteárico y β -eleosteárico disminuyen el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y reducir el nivel colesterol LDL (**Ortega, 2017**).

Estos aceites de capulí podrían ser aislados y empleados en el desarrollo de un suplemento alimenticio dado al contenido de ácidos α -eleosteárico y β -eleosteárico que son ácidos grasos conjugados, compuestos naturales y biológicamente activos. Estos ácidos grasos conjugados evidencian beneficios sobre la salud, ya que poseen actividad antioxidante, antitumoral y protegen las membranas de eritrocitos evitando la oxidación *in vitro* (**Zhang et al., 2012**). Por ejemplo, **Igarashi & Miyazawa, (2000)** investigaron el efecto citotóxico de los ácidos grasos trienoicos conjugados en células tumorales humanas cultivadas, concluyendo que es posible ingerir estos ácidos grasos como parte de una dieta normal. **Sun et al., (2012)** realizaron un estudio del ácido beta-eleosteárico ya que se pueden extraer de fuentes naturales como semillas de las plantas, este estudio se basó en inducir apoptosis en células cancerosas de vejiga humana T24, mediante un tratamiento con el ácido beta-eleosteárico, ya que interviene en la producción de especies reactivas de oxígeno y activación del receptor activado por proliferador de peroxisomas (PPAR γ). También **Zhang et al., (2012)** evidenció el efecto positivo en la inhibición del crecimiento y

efecto apoptótico generado por el ácido alfa-eleostearico en células cancerígenas de mama humano.

Tabla 3. Ácidos grasos de la semilla del capulí (*Prunus serótina*)

	Ácidos grasos	Número de colecta				
		Primera	Segunda	Tercera	Cuarta	
Estado	FRESCO	Palmítico	4.56±0.59 ^{a,w}	4.07±0.08 ^{a,x}	4.43±0.071 ^{a,y}	6.05±0.17 ^{a,z}
		Esteárico	3.30±0.21 ^{a,w}	2.68±0,04 ^{a,x}	2.915±0,78 ^{a,y}	3.69±0.37 ^{a,z}
		Oleico	33.05±0.21 ^{a,w}	33.23±0,52 ^{a,x}	34.31±0.20 ^{a,y}	35.98±0.19 ^{a,z}
		Linoleico	31.57±0.64 ^{a,w}	31.01±0,55 ^{a,x}	29.25±0,03 ^{a,y}	33.50±0.18 ^{a,z}
		α-Eleosteárico	23.91±0.98 ^{a,w}	19.275±1.09 ^{a,x}	23.46±0.66 ^{a,y}	16.11±0.78 ^{a,z}
		β-Eleosteárico	3.62±0.68 ^{a,w}	9.74±0.11 ^{a,x}	5.78±0.78 ^{a,y}	4.69±0.22 ^{a,z}
	CONGELADO	Palmítico	5.19±0.36 ^{b,w}	6.00±0.11 ^{b,x}	5.65±0.13 ^{b,y}	8.60±0.52 ^{b,z}
		Esteárico	3.24±0.001 ^{b,w}	4.04±0.11 ^{b,x}	3.39±0.09 ^{b,y}	4.72±0.05 ^{b,z}
		Oleico	42.14±0.67 ^{b,w}	38.22±1.27 ^{b,x}	38.97±0.08 ^{b,y}	48.43±0.42 ^{b,z}
		Linoleico	38.73±0.55 ^{b,w}	39.26±0.39 ^{b,x}	33.81±0.01 ^{b,y}	30.81±0.23 ^{b,z}
		α-Eleosteárico	5.93±0.32 ^{b,w}	6.87±0.69 ^{b,x}	7.62±0.03 ^{b,y}	2.46±0.01 ^{b,z}
		β-Eleosteárico	4.79±1.25 ^{b,w}	5.63±0.77 ^{b,x}	10.63±0.21 ^{b,y}	4.98±0.35 ^{b,z}

^{a,b} Superíndices letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa entre estados (Fresco y congelado) prueba de Tukey ($p < 0,05$).

^{w,x,y,z} Superíndices letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa en las colectas prueba de Tukey ($p < 0,05$)

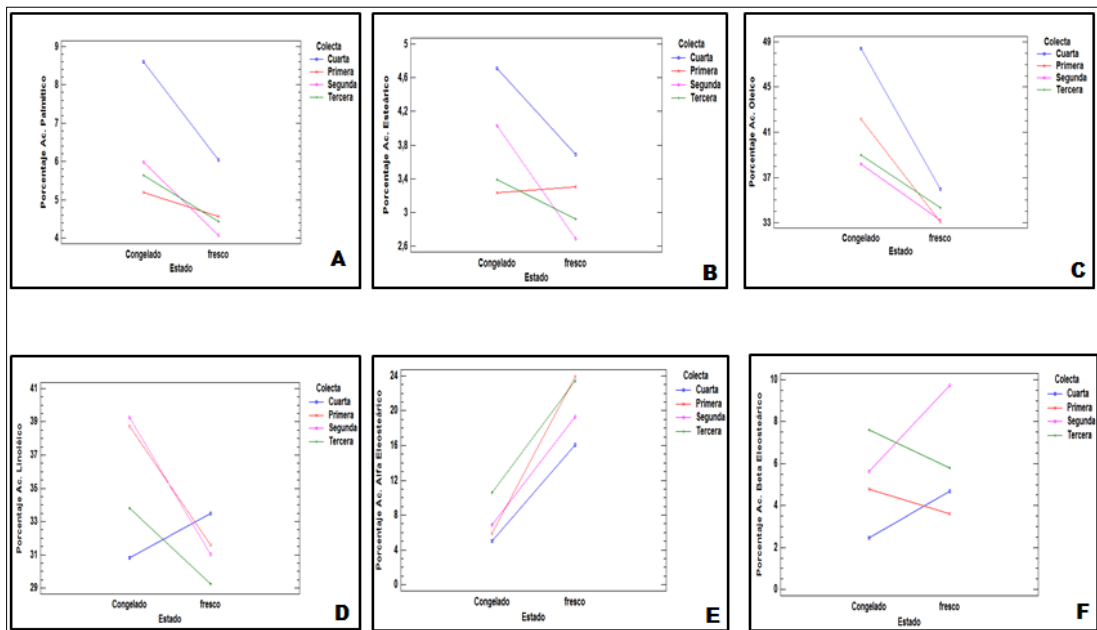


Figura 7. Gráfico de medias de ácidos grasos Estado vs. Porcentaje de ácido graso en cada colecta. (A) ac. palmítico, (B) ac. Esteárico, (C) ac. Oleico, (D) ac. Linoleico, (E) ac. Alpha-eleostearico, (F) ac. Beta-eleostearico.

3. 1.3 Actividad antimicrobiana

Detección molecular

El equipo de detección molecular 3M™ utiliza un mecanismo basado en la amplificación isotérmica del ADN por medio de reacción en cadena de polimerasa (Loff et al., 2014). Esta técnica combina la bioluminiscencia para detectar la amplificación del ADN objetivo de la bacteria (Mik et al., 2016). Los kits de ensayo para detección molecular son específicos para bacterias patógenas como *E. coli* 0157 y *Listeria monocytogenes*. La mayoría de estudios en los que se emplea la detección molecular 3M™, se los realiza en muestras alimentarias y en superficies medioambientales para evaluar la calidad de superficies en la que se realiza la manipulación de alimentos (Bird et al., 2013).

Los resultados obtenidos en el equipo DMS 3M muestran la presencia de *E. coli* en el pocillo de cepa pura y la cepa más extracto (cáscara). Esta curva es similar al control negativo, debido a la cepa empleada que es *E. coli* 025922. En este ensayo, (Anexo 7) el resultado es negativo ya que no se detectó la presencia de la bacteria *E. coli* 0157. La figura 12 muestra un leve ascenso de la curva de cepa pura y cepa+extracto en la etapa final de la detección. Esto indica que la bacteria empleada tiene trazas de ADN de las bacterias del kit.

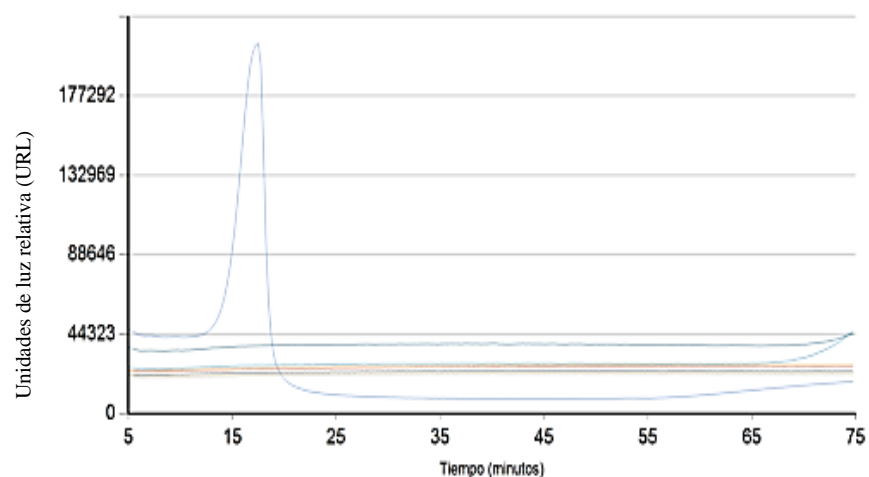


Figura 8. Curva de resultados *Escherichia coli* (curva azul relevante es el control positivo y línea roja es el control negativo).

La **figura 9** muestra los resultados obtenidos con la bacteria *Listeria monocytogenes*, en la que se observa la presencia de la bacteria en las muestras, cepa pura (muestra 1) y cepa+extracto (muestra 2), en la que se observa que la cepa pura presenta una curva mayor a la del control positivo, mientras que la cepa+extrato tiende a una leve disminución con referencia a la cepa pura. Es decir que la bacteria al estar en contacto con el extracto produce una leve disminución en las curvas de detección. Sin embargo, los resultados que mostró el sistema de detección molecular 3M (**Anexo 6**) no evidenció la inhibición total de las bacterias en ninguno de los tratamientos, además que demostró ser un método eficaz para la detección de presencia o ausencia, más no para cuantificación de bacterias (**Mik et al., 2016**).

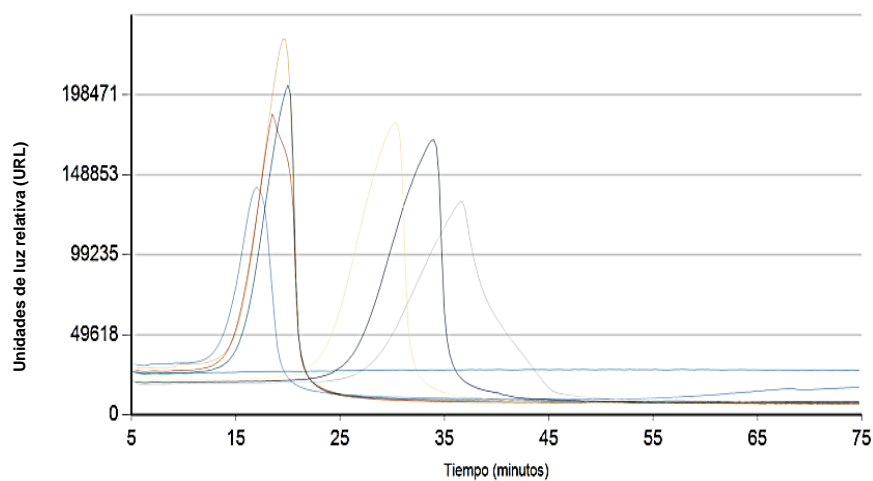


Figura 9. Curva de resultados *Listeria monocytógenes*

Detección microbiana en placa

Las pruebas de disco en placa de actividad antibacteriana, no presentaron halos de inhibición en bacterias gram⁽⁺⁾ *Listeria monocytógenes* y *Staphylococcus aureus* ni en bacterias gram⁽⁻⁾ *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli*. En la **tabla 4** se muestra las placas en discos en los cuales los microorganismos fueron cultivados en medio Mueller-Hinton a 37°C por 24 horas. A estos se les añadieron los extractos de cáscara de capulí diluidos en DMSO 0.1%. **Jiménez et al., (2013)** realizaron pruebas de actividad antibacteriana en extractos del fruto completo de capulí, el estudio mostró resultados positivos con los extractos frente a bacterias gram⁽⁺⁾ *Staphylococcus aureus* y en bacterias gram⁽⁻⁾ *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia*

coli en la preparación de los extractos emplearon diluyentes como acetona, etanol(95%) y metanol (grado analítico) en altas concentraciones. Por lo contrario, los resultados en este estudio no apoyan esta hipótesis, de hecho, se considera que el empleo de diluyentes en concentraciones elevadas pudo ser el factor que causó la inhibición de crecimiento de las bacterias en el experimento de Jiménez et al., (2011). Delgado, Fernández, Velardo, & González, (2012) realizaron el estudio *in vitro* de la actividad antibacteriana de los extractos acuosos de hojas de *Prunus salicina*. Los investigadores reportaron resultados positivos de inhibición frente *Listeria innocua* y *Escherichia coli*, sin embargo, es relevante mencionar que se realizó una previa extracción de los componentes activos. Estudios de efecto antibacteriano en *Prunus spinosa*, que emplearon diferentes medios para el crecimiento de los microorganismos, que evidenció efectividad en cuanto a *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* (Gegiu et al., 2015).

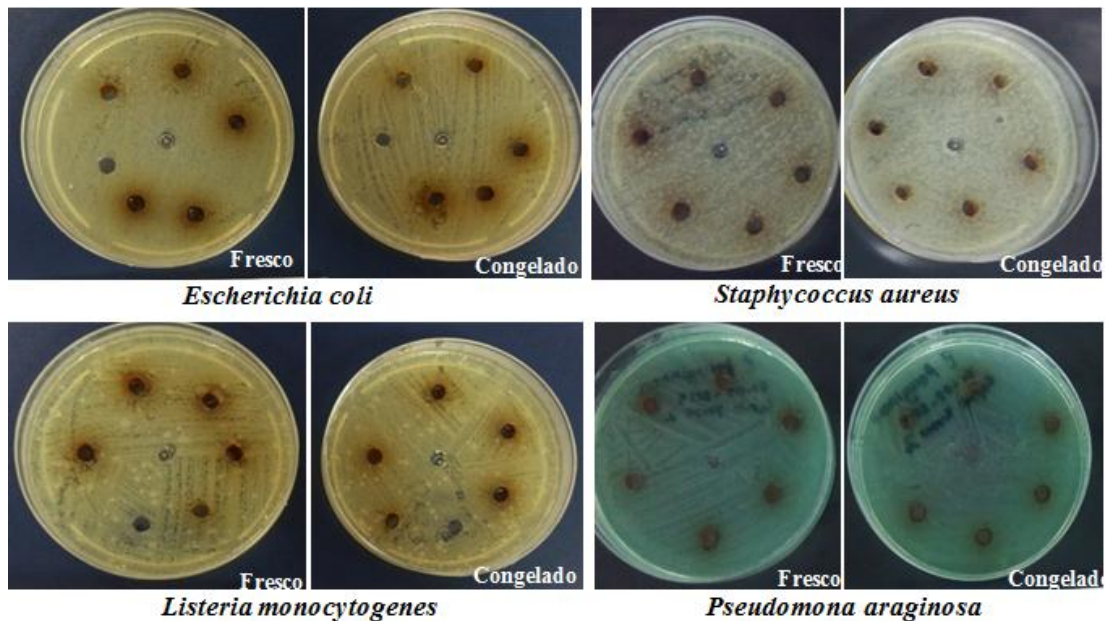


Figura 10 Efectividad inhibitoria del extracto de cáscara de capulí (Antibiograma Mueller-Hinton, 37°C por 24 horas)

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- Se determinó antocianinas monoméricas a partir de cáscaras liofilizadas de capulí en estado fresco resultando en una concentración promedio de 402.391 mg/g. Por otro lado, la cáscara liofilizada de capulí en estado congelado presentó 245.004 mg/g, observando que esta fruta contiene un elevado contenido de antocianinas.
- Los aceites obtenidos presentaron un perfil rico en ácidos grasos saturados e insaturados (palmítico, esteárico, oleico, linoleico, α -eleosteárico y β -eleosteárico). De estos ácidos grasos el ácido oleico predominó en el perfil con un porcentaje del $34.14\% \pm 0.281$.
- El análisis físico químico muestra que la congelación no influye ($P > 0.05$) en la determinación de sólidos solubles 20.8 °Brix, 8.84 pH, acidez de 0.643 % de ácido málico y 0.7690 % de cenizas. Además, la cuantificación de azúcares reductores de fue de $16.02 \text{ mg/ml} \pm 0.45$.
- El contenido de antocianinas, azúcares y aceites presentes en el fruto del capulí presentan diferencias significativas ($P < 0.05$) para los diferentes tiempos de recolección de la fruta.
- El efecto de la ultra congelación afectó la cantidad de antocianinas encontradas en la cáscara del capulí. El congelamiento de los frutos produjo

adherencia de los pigmentos a la pulpa, por esta razón se evidenció una disminución significativa en la cantidad de antocianina observada.

- Los azúcares no se ven afectados por los efectos de la congelación. De acuerdo a estos resultados, la ultra congelación mantiene el contenido bioquímico de la pulpa sin alterar. La grasa en las semillas la ultra congelación, permite la formación de ácidos grasos libres por esta razón existe una disminución en el porcentaje el perfil de ácidos grasos.
- No se observó potencial antimicrobiano de los extractos de la cáscara del capulí en bacterias gram⁽⁺⁾ *Listeria monocytógenes* y *Staphylococcus aureus* y en bacterias gram⁽⁻⁾ *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli*.

RECOMENDACIONES

- De acuerdo a la cantidad elevada de antocianinas que posee el capulí, se puede obtener productos de interés comercial como por ejemplo: suplementos para dietéticos, colorantes para bebidas, medicamentos, elaboración de vinos, cosméticos, etc.
- El capulí posee componentes bioactivos como antocianinas, glucosa, ácidos grasos trienos conjugados que pueden ser aprovechados, separando y aislando sus componentes de interés para la elaboración de productos alimenticios, cosméticos o suplementos alimenticios.
- Para evaluar la efectividad de actividad antimicrobiana se sugiere realizar la extracción de componentes bioactivos (antocianinas) mediante una maceración a 70°C por 30 minutos de la cáscara previo a la evaluación.
- Con la finalidad de aprovechar beneficios del capulí se sugiere desarrollar productos como azúcar y biopolímeros como ingredientes para la elaboración de confitería, además que serían productos innovadores.

- Para evitar la pérdida de uno de los componentes bioactivos se sugiere congelar las cáscaras del capulí separadas a la pulpa para poder extraer las cantidades óptimas de antocianinas.
- Se sugiere realizar experimentos de acción antioxidante en células causantes del estrés oxidativo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilera, M., Reza, M. del C., Chew, R., & Meza, J. (2015). Propiedades Funcionales De Las Antocianinas. *BIOTecnia*, 13(2), 16. <https://doi.org/10.18633/bt.v13i2.81>
- Al-snafi, A. E. (2015). BIOACTIVE COMPONENTS AND PHARMACOLOGICAL EFFECTS OF CANNA INDICA- AN OVERVIEW. *Pharmacology & Toxicology*, 5(February), 71–77.
- Altuna, J., Silva, M., Álvarez, M., Quinteros, M., Morales, D., & Carrillo, W. (2018). YELLOW PITAYA (HYLOCEREUS MEGALANTHUS) FATTY ACIDS COMPOSITION FROM ECUADORIAN AMAZONIA. *Asian J Pharm Clin Res*, 11(11), 13–16. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i11.24922>
- Álvarez, J. G., Rozo, X., & Reyes, A. J. (2015). Comportamiento poscosecha de frutos de ciruela (*Prunus salicina* Lindl .) en cuatro estados de madurez tratados con etileno Effect of ethylene on postharvest behavior of plum fruits (*Prunus salicina* Lindl .) at four stages of maturity. *Revista Colombiana De Ciencias Hortícolas*, 9(1), 46–59. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/rcch/v9n1/v9n1a05.pdf>
- Alveano, I., Rojas, A., Oomah, B. D., & Drover, J. C. G. (2011). Characteristics of *Prunus serotina* seed oil q. *Food Chemistry*, 124(3), 983–990. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.040>
- Arenales, I., Sandoval, O., Ramírez, C., & Victorino, S. (2015). Desarrollo de geles a partir de pulpa de capulín (*prunus virginiana*) y biopolímeros naturales. *Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias*, 2–3, 392–400. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/316283729>
- Armstrong, F., & Bennett, T. (1982). *Bioquímica* (Primera). Buenos Aires-Argentina: REVERTÉ S.A.
- Bak, I., Lekli, I., Juhasz, B., Nagy, N., Varga, E., Varadi, J., ... Tosaki, A. (2019).

- Cardioprotective mechanisms of *Prunus cerasus* (sour cherry) seed extract against ischemia-reperfusion-induced damage in isolated rat hearts. *Health Science Center*, 13(4), 1329–1336. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01243.2005>.
- Barrero, M., & Bello, R. (2001). Efecto de la congelación -40°C en los ácidos grasos de la pulpa de sardina (*Sardinella aurita*) lavada con una solución de bicarbonato de sodio al 0.5%. *FCV-LUZ*, XI(3), 230–239.
- Bernardo, G., Oneto, C., Antunes, P., Rodrigues, F., & Empis, J. (2001). Extraction of lipids from cherry seed oil using supercritical carbon dioxide. *Eur Food Res Technol*, (212), 170–174. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s002170000>
- Bird, P., Fisher, K., Boyle, M., Huffman, T., Benzinger, M. J., Bedinghaus, P., ... David, J. (2013). Evaluation of 3M™ molecular detection assay (MDA) salmonella for the detection of Salmonella in selected foods: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 96(6), 1325–1335. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.13-227>
- Blando, F. (2004). Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.) Anthocyanins as Ingredients for Functional Foods. *J Biomed Biotechnol*, 5, 253–258. <https://doi.org/10.1155/S1110724304404136>
- Borja, S. (2015). Componentes bioactivos de los alimentos y beneficios para la salud. Retrieved from <https://analizacalidad.wordpress.com/2015/11/18/componentes-bioactivos-de-los-alimentos-y-beneficiosos-para-la-salud/>
- Brito, A., Areche, C., Sepúlveda, B., Kennelly, E. J., & Simirgiotis, M. J. (2014). Anthocyanin Characterization, Total Phenolic Quantification and Antioxidant Features of Some Chilean Edible Berry Extracts. *Molecules*, 19, 10936–10955. <https://doi.org/10.3390/molecules190810936>
- Cerón, A., Osorio, O., & Hurtado, A. (2012). Identificación de ácidos grasos contenidos en los aceites extraídos a partir de semillas de tres diferentes especies de frutas. *Acta Agronómica*, 61(2), 126–132.
- Chaar, J., & Sánchez, E. (2010). Efectos de la carga frutal y del ambiente lumínico en ciruelo D ' Agen (*Prunus domestica* L.). *Revista de La Facultad de*

Ciencias Agrarias, 42(1), 125–133.

- Chisaguano, L. (2012). *EVALUACIÓN DE LA APLICACIÓN DE TRES PRODUCTOS INDUCTORES DE BROTAÇÃO EN CAPULÍ (Prunus capuli), COMUNIDAD QUILAJALÓ – SALCEDO – COTOPAXI 2010*. Universidad Técnica de cotopaxi.
- Clandinin, M. T., Cook, S. L., Konard, S. D., & French, M. A. (2000). The effect of palmitic acid on lipoprotein cholesterol levels. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 51, 61–71.
- CODEX STAN 247. (2005). Norma general de CODEX para zumos (jugos) y nectares de frutas.
- Deineka, V. I., Gabruk, N. G., Deineka, L. A., & Manokhina, L. A. (2002). TRIGLYCERIDE COMPOSITION OF OIL FROM STONES OF NINE Rosaceae PLANTS. *Chemistry of Natural Compounds*, 38(5), 410–411. Retrieved from <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1022147207053>
- Delgado, J., Fernández, M. F., Velardo, B., & González, D. (2012). In vitro assays of the antibacterial and antioxidant activity of aqueous leaf extracts from different *Prunus salicina* Lindl . cultivars. *ELSEVIER*, 50, 2481–2486. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.024>
- Deloire, A. (2011). The concept of berry sugar loading. Retrieved from <https://www.wineland.co.za/the-concept-of-berry-sugar-loading/>
- Drago, M., López, M., & Sainz, T. (2006). Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 37(4), 58–68.
- Eisele, T., Giusti, M. M., Hofsommer, H., Koswig, S., Krueger, D. A., Kupina, S., ... Wightman, J. D. (2005). Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *AOAC International*, 88, 1269–1278.
- FAO. (1997). CARBOHIDRATOS Y COMPONENTES ALIMENTARIOS

RELACIONADOS: IDENTIFICADORES DE INFOODS, SIGNIFICADOS Y USOS. *Food Composition and Analysis*, 9, 100–118. Retrieved from <http://www.fao.org/3/Ah833s26.htm#TopOfPage>

Fresnedo, S., & Muratalla, A. (2011). Morphovariability of capulín (*Prunus serotina* Ehrh.) in the central-western region of Mexico from a plant genetic resources perspective. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58(4), 481–495. <https://doi.org/10.1007/s10722-010-9592-2>

García, D., Vilorio, A., Douglas, B., & Moreno, M. (2003). Características físico-químicas y composición de ácidos grasos del aceite crudo extraído de residuos de mora (*Rubus glaucus* Benth.). *Food Science Technology*, 54, 259–263.

Gegiu, G., Branza, A., Bucur, L., Grigorian, M., Tache, T., & Badea, V. (2015). CONTRIBUTIONS TO THE ANTIMICROBIAL AND ANTIFUNGAL STUDY OF THE AQUEOUS EXTRACT OF PRUNUS SPINOSA L. *Pharmacy*, 63(Mic), 275–279. Retrieved from http://www.revistafarmacia.ro/201502/art-18-Gegiu_275-279.pdf

Gordillo, M., Tobar, J., Arahana, V., & Torres, M. D. L. (2015). Identificación de alelos S asociados con autoincompatibilidad en individuos de capulí (*Prunus serotina* subsp. capulí) mediante la amplificación del Intrón I del gen de la S-RNasa. *Avances En Ciencias E Ingenierías*, 7(1), B17–B23. Retrieved from https://www.usfq.edu.ec/publicaciones/avances/archivo_de_contenidos/Documents/volumen_7_numero_1/B17-7-1-2015.pdf

Guadalupe, J. J., Gutiérrez, B., Intriago-Baldeón, D. P., Arahana, V., Tobar, J., Torres, A. F., & Torres, M. de L. (2015). Genetic diversity and distribution patterns of Ecuadorian capuli (*Prunus serotina*). *Biochemical Systematics and Ecology*, 60, 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2015.04.001>

Heldman, D. R., & Singh, P. R. (2009). *Introducción a la ingeniería de los alimentos* (Segunda ed). California.

Horbowicz, M., Kosson, R., Grzesiuk, A., Physiology, P., Prusa, G., Crops, V., & Received, P. (2008). ANTHOCYANINS OF FRUITS AND VEGETABLES - THEIR OCCURRENCE , ANALYSIS, 68, 5–22.

<https://doi.org/10.2478/v10032-008-0001-8>

Hucl, P., & Abdel, A. (1999). A Rapid Method for Quantifying Total Anthocyanins in Blue Aleurone and Purple Pericarp Wheats. *Cereal Chemistry*, 76(3), 350–354.

Igarashi, M., & Miyazawa, T. (2000). Newly recognized cytotoxic effect of conjugated trienoic fatty acids on cultured human tumor cells. *ELSEVIER*, 148, 173–179. [https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(99\)00332-8](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(99)00332-8)

Jiménez, M. ., Castillo, I. ., Azuara, E. ., & Beristain, C. (2011). ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CAPULIN (*Prunus serotina* subsp capuli) EXTRACTS. *Redalyc*, 10(1), 29–37. Retrieved from <https://www.redalyc.org/html/620/62019843004/>

Jiménez, M., Castillo, I., Azuara, E., & Beristain, C. (2013). Evaluación de la variabilidad genética del capulí (*Prunus serotina* subsp. capulí) en tres provincias del Ecuador. *Revista Ecuatoriana de MEDICINA Y CIENCIAS BIOLÓGICAS*, 11, 11–25. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6538247.pdf>

Jiménez, P., Masson, L., & Quitral, V. (2013). Composición química de semillas de chía, linaza y rosa mosqueta y su aporte en ácidos grasos omega-3. *Chil Nutr*, 40(5), 5–10.

Lobit, P., Genard, M., Soing, P., & Habib, R. (2006). Modelling malic acid accumulation in fruits : relationships with organic acids , potassium , and temperature. *Journal of Experimental Botany*, 57(6), 1471–1483. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj128>

Lock, O. (1997). *Antocianninas. Colorantes Naturales* (Primera ed). Lima - Perú: Pontífica Universidad Católica del Perú.

Loff, M., Mare, L., De Kwaadsteniet, M., & Khan, W. (2014). 3MTM Molecular Detection system versus MALDI-TOF mass spectrometry and molecular techniques for the identification of *Escherichia coli* 0157: H7, *Salmonella* spp. & *Listeria* spp. *Journal of Microbiological Methods*, 101(1), 33–43.

<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.03.015>

Márquez, G. (2011). *Capacidad antioxidante y caracterización estructural de las antocianinas de los frutos rojos de Prunus domestica L., Ficus carica L. y Vitis vinifera L. c. v. "red globe" cultivados en Perú*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Martínez, A. (2001). *Aceites esenciales. Phytochemistry*. Medellín-Colombia.

Martinez, J. C. (2003). Actividad antibacteriana del aceite esencial de mandarina. *Scielo*, 20(4), 27–33. Retrieved from http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182003000400010

Martínez, N., Arévalo, K., Verde, M., Morales, C., Oranday, A., Núñez, A., & Morales, E. (2011). Antocianinas y actividad anti radicales libres de rubus adenotrichus Schltidl (zarzamora). *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 42(4), 66–71.

Mcclements, D. J., Decker, E. A., Park, Y., & Weiss, J. (2009). Structural Design Principles for Delivery of Bioactive Components in Nutraceuticals and Functional Foods Structural Design Principles for Delivery of Bioactive Components in Nutraceuticals and Functional Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 6(May 2013), 577–606. <https://doi.org/10.1080/10408390902841529>

Medina, J. (2014). *Determinación de contenido de ácido Oleico, Linoleico, Linolénico y Trans-elaídico en margarinas, aceites y mayonesas por Cromatografía de Gases*. UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR. Retrieved from <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2602/1/T-UCE-0017-70.pdf>

Mik, M., Sin, H., Lim, Y., Zheng, Q., Turner, M., & Yuk, H. (2016). Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) coupled with bioluminescence for the detection of *Listeria monocytogenes* at low levels on food contact surfaces. *ELSEVIER*, 60, 237–240. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.07.035>

- Miller, G. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 21(III), 426–428.
- Morales, J. (2007). *Síntesis del sorbital a partir de glucosa por vía electroquímica y determinación del contenido del mismo en 23 frutas comunes y exóticas del Ecuador*. Universidad Politécnica Nacional. Retrieved from <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/2790>
- Muñoz, C., Urrea, G., Jiménez, M., Rodríguez, G., & Luna, G. (2017). Efecto de las condiciones de liofilización en propiedades fisicoquímicas, contenido de pectina y capacidad de rehidratación de rodajas de ciruela (*Spondias purpurea* L.). *Agrociencia*, 52, 1–13.
- Nielsen, S. (2016). Análisis de la composición de los alimentos. In *Food analysis 4ta edición* (Springer). West Lafayette (USA).
- Núñez, R. Á., Pérez, B. R., Hernández, R., Nacional, U., Francisco, E., & Perozos, N. A. L. (2012). Contenido de azúcares totales , reductores y no reductores en Agave cocui Trelease Content of total , Reducing and Non-Reducing Sugars in Agave cocui Trelease. *Multiciencias*, 12(2), 129–135.
- Núñez, T. (2019). *Evaluación del efecto antibacteriano de los extractos de plantas medicinales del Ecuador*. UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO. Retrieved from <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/30418>
- Ortega, R. (2017). Importancia de las grasas en la alimentación. Retrieved from https://revista.nutricion.org/hemeroteca/revista_agosto_03/Funcionales/FLORA_grasas.pdf
- Parra, A., Hernández, J., & Camacho, J. (2007). ESTUDIO DE ALGUNAS PROPIEDADES FÍSICAS Y FISIOLÓGICAS DE LA CIRUELA VARIEDAD HORVIN. *Bras. Frutic.*, 29, 431–437.
- Pérez, T., Cuéllar, J., & Donoso, R. (2003). IMPLEMENTACIÓN DE UNA LÍNEA DE KIWI CONGELADO TIPO IQF PARA UNA PLANTA HORTOFRUTÍCOLA DE LA VIII REGIÓN. Santiago de Chile.
- Poll, L., & Barixtofte, M. (2003). Influence of harvest year and harvest time on

soluble solids , titrateable acid , anthocyanin content and aroma components in sour cherry (*Prunus cerasus* L . cv . “ Stevnsbær ”). *Eur Food Res Technol*, 216, 212–216. <https://doi.org/10.1007/s00217-002-0641-8>

Restrepo, A., Cortés, J., & Rojano, M. (2009). DETERMINACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE FRESA (*Fragaria ananassa* Duch.) FORTIFICADA CON VITAMINA E. *Redalyc*, 76(159), 163–175. Retrieved from <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49611945018>

Reyes, F., Palou, E., & López, A. (2014). Métodos de evaluación de la actividad antimicrobiana y determinación de los componentes químicos de los aceites esenciales. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 8, 68–78. Retrieved from <http://web.udlap.mx/tsia/files/2015/05/TSIA-81-Reyes-Jurado-et-al-2014.pdf>

Rojas, Z. (2017). CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS DE CÁSCARA DEL FRUTO DE CAPULÍ (*Prunus serotina* spp) UTILIZANDO DOS SOLVENTES A DIFERENTES TEMPERATURAS Y TIEMPOS. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA. Retrieved from <http://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/1721/TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Seyyednejad, S., Maleki, N., Damab, M., & Motamedi, H. (2008). Antibacterial activity of *Prunus mahaleb* and Parsley (*Petroselinum crispum*) against some pathogen. *Asian Journal of Biological Sciences*, 1(3351), 51–55. Retrieved from <https://rms.scu.ac.ir/Users/6609623848/Articles/Journals/51-55.pdf>

Sun, Z., Wang, H., Ye, S., Xiao, S., Liu, J., Wang, W., ... Wang, J. (2012). Beta-eleostearic acid induce apoptosis in T24 human bladder cancer cells through reactive oxygen species (ROS) -mediated pathway. *ELSEVIER*, 99(1–2), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2012.04.001>

Tapia, M., Pérez, B., Cavazos, J., & Mayett, Y. (2013). OBTENCIÓN DE ACEITE DE SEMILLA DE MANGO MANILA (*Mangifera indica* L .) COMO UNA ALTERNATIVA PARA Extraction of manila mango (*Mangifera indica* L .) seed kernel as an alternative to exploit agricultural waste in tropical regions,

32(1405–9282), 258–266.

Tronco, O. (2017). Ultracongelación en alimentos. Retrieved from <https://es.slideshare.net/olivertroncoscastill/ultracongelacin-de-alimentos>

Vila, R. (2006). *Caracterización físico-química del membrillo japonés (Chaenomeles sp. Lindl) desarrollo fisiológico y conservación frigorífica*. Universidad de Murcia. Retrieved from <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/11058/vilalopez.pdf?sequence=1>

Villaruel, G. (2008). *DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA GUINDA (Prunus capuli)*. Universidad Nacional del Centro del Perú. Retrieved from <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/3204/VillaruelDiaz.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Wang, Y., Ji, S., Dai, H., Kong, X., Hao, J., Wang, S., & Zhou, X. (2019). Changes in Membrane Lipid Metabolism Accompany Pitting in Blueberry During Refrigeration and Subsequent Storage at Room Temperature. *Frontiers in Plant Science*, 10(June), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00829>

Wrolstad, R., Acree, T., Haejung, A., Decker, E., Penner, M., Reid, D., ... Sporns, P. (2002). *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*.

Zapata, L., Heredia, A., Quinteros, C., Malleret, A., Clemente, G., & Cárcel, J. (2014). Optimización de la extracción de antocianinas de arándanos. *Ciencia, Docencia y Tecnología*, 25, 166–192.

Zhang, T., Gao, Y., Mao, Y., Zhang, Q., Lin, C., & Lin, P. (2012). Growth inhibition and apoptotic effect of alpha-eleostearic acid on human breast cancer cells. *The Japanese Society of Pharmacognosy and Springer*, 66, 77–84. <https://doi.org/10.1007/s11418-011-0556-4>

ANEXOS

Anexo 1: Recolección y preparación de la fruta para el estudio



Separación de la cáscara del capulí fresco y congelado



Anexo 2 Extracción de ácidos grasos

Figura 10. Aceite de capulí de la primera, segunda, tercera y cuarta colecta

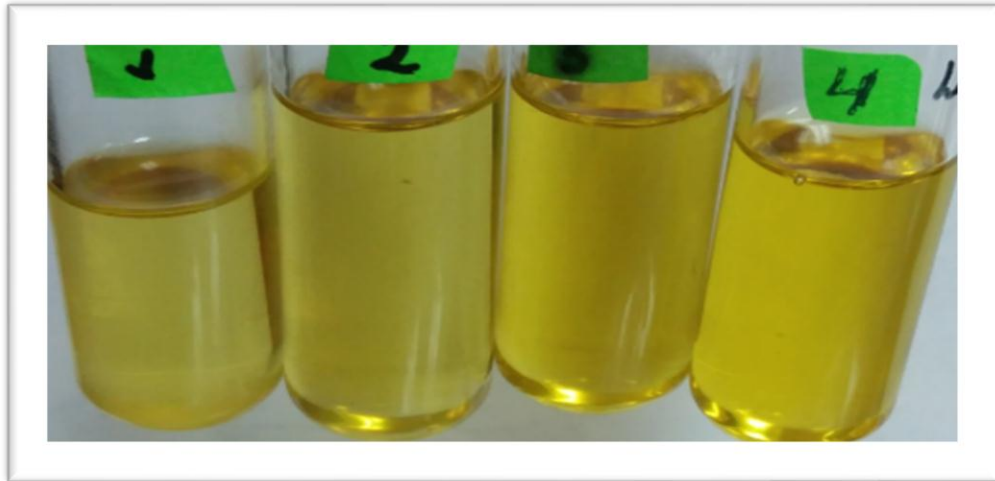


Figura 11. Cromatograma de ácidos grasos de aceite de semilla de capulí (*Prunus serótina*)

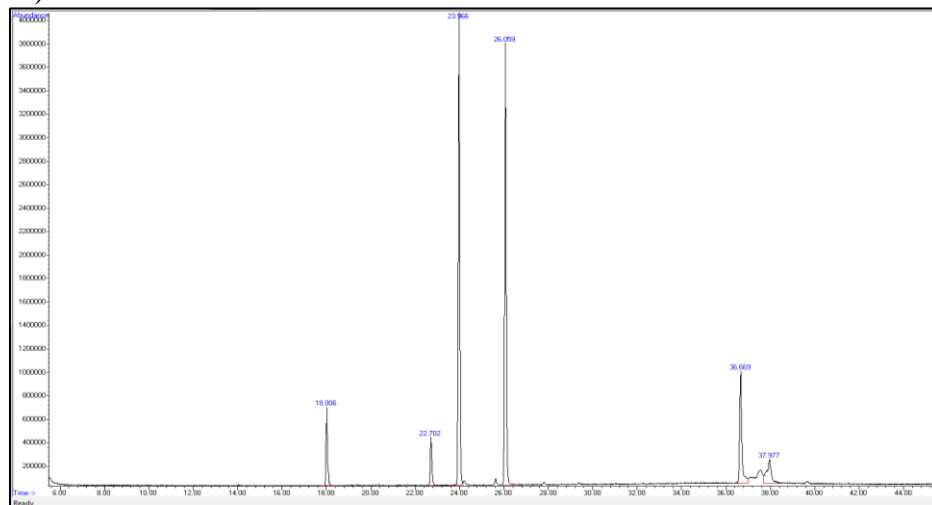


Tabla 4. Contenido de grasa en la semilla de capulí

	Porcentaje (%) de grasa	
	Fresco	Congelado
Primera	40,0904	40,1150
Segunda	47,2834	39,9217
Tercera	44,6521	42,7779
Cuarta	39,9799	44,0601

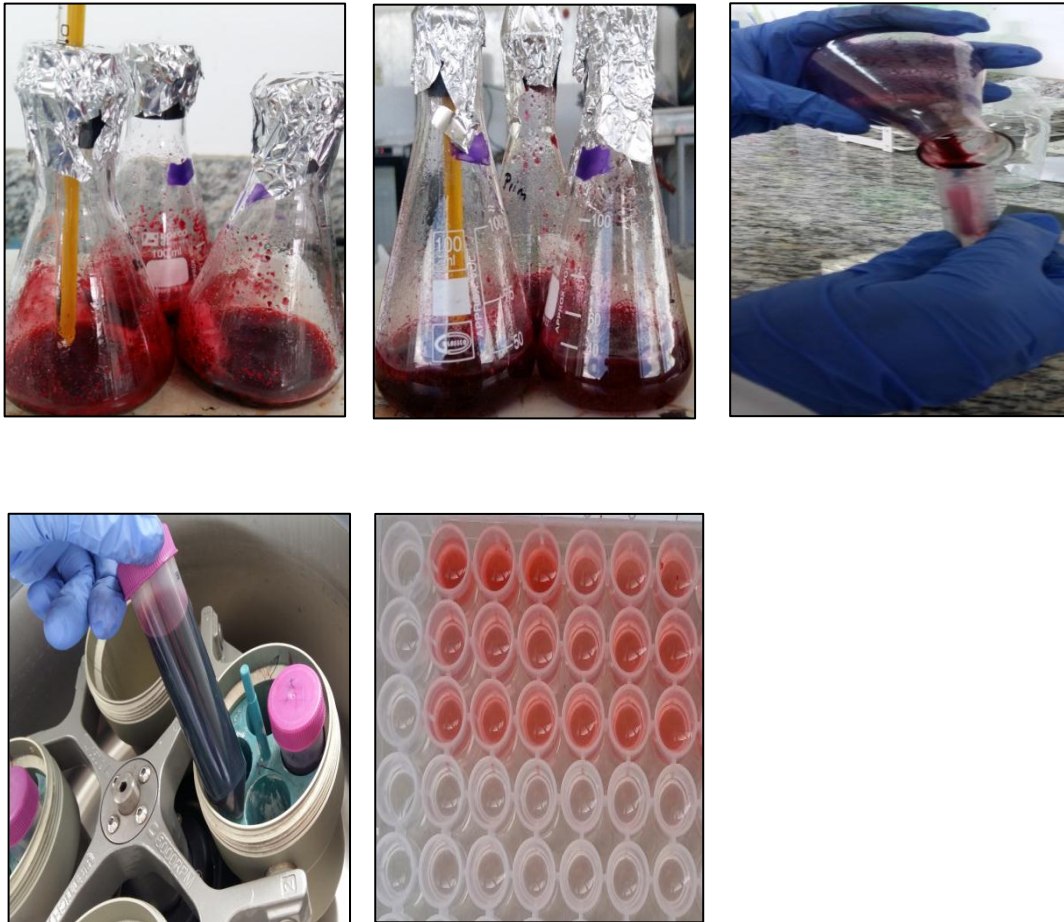
Promedio de 3 réplicas

Anexo 3

Figura 12. Cascara de capulí liofilizada



Figura 13. Proceso extracción de antocianinas



Anexo 4. Tablas de ANOVA multifactorial con 95% de confianza

Tabla 5 Análisis de Varianza para Concentración de Antocianinas monomérica (mg/g)

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Estado	198165,	1	198165,	331,50	0,0000
B:Colecta	113424,	3	37807,9	63,25	0,0000
INTERACCIONES					
AB	7957,41	3	2652,47	4,44	0,0129
RESIDUOS	14347,0	24	597,791		
TOTAL (CORREGIDO)	333893,	31			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Tabla 6 Análisis de Varianza para °Brix

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Estado	0,0104167	1	0,0104167	0,38	0,5439
B:Colecta	18,1912	3	6,06375	223,89	0,0000
INTERACCIONES					
AB	0,06125	3	0,0204167	0,75	0,5361
RESIDUOS	0,433333	16	0,0270833		
TOTAL (CORREGIDO)	18,6962	23			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Tabla 7 Análisis de Varianza para pH

Análisis de Varianza para pH - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Estado	0,0112667	1	0,0112667	75,11	0,0000
B:Colecta	0,231217	3	0,0770722	513,81	0,0000
INTERACCIONES					
AB	0,0005	3	0,000166667	1,11	0,3737
RESIDUOS	0,0024	16	0,00015		
TOTAL (CORREGIDO)	0,245383	23			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Tabla 8. Análisis de Varianza para Acidez

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Estado	0,0000996338	1	0,0000996338	60,52	0,0000
B:Colecta	0,0000552279	3	0,0000184093	11,18	0,0003
INTERACCIONES					
AB	0,000252805	3	0,0000842682	51,19	0,0000
RESIDUOS	0,00002634	16	0,00000164625		
TOTAL (CORREGIDO)	0,000434006	23			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Tabla 9 Análisis de Varianza para Cenizas

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Estado	0,00163515	1	0,00163515	0,75	0,4002
B:Colecta	0,104319	3	0,0347728	15,88	0,0000
INTERACCIONES					
AB	0,000700425	3	0,000233475	0,11	0,9550
RESIDUOS	0,0350303	16	0,00218939		
TOTAL (CORREGIDO)	0,141684	23			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

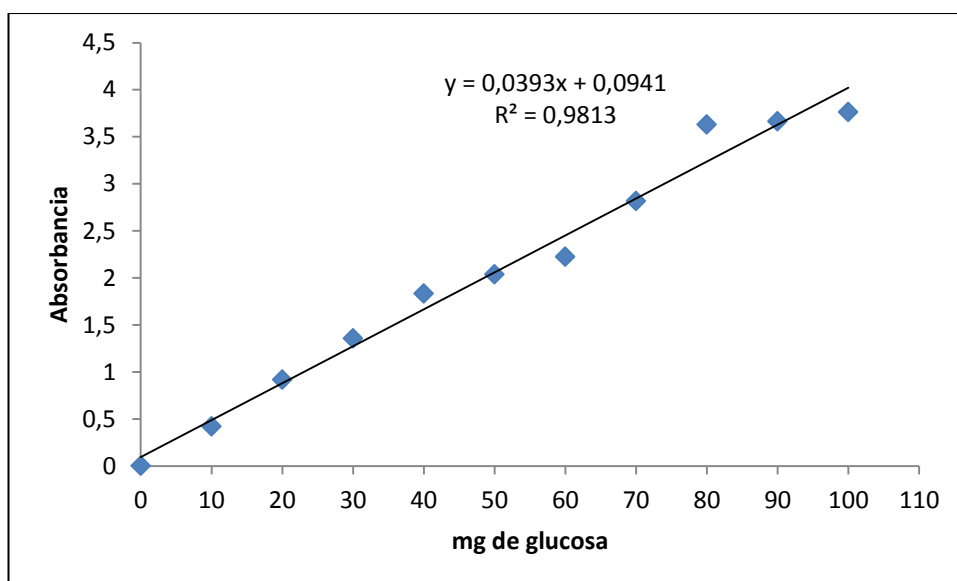
Anexo 5

Medición de acidez potenciómetro Mettler Toledo



Anexo 6

Curva de calibración mg/ml de glucosa



Anexo 7

Resultados obtenidos en el Sistema de detección molecular 3M

Software de Detección Molecular 3M

Reporte de la corrida

Id. de la corrida	09032019(1)	Fecha de la corrida	03/09/2019 03:17:40 p. m.
Estado de la corrida	Completado	Usuario	uodide-icia
Técnico	uodide-icia	Reportado por	uodide-icia
Comentario de la corrida		equipo	0213060032:213060032

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Id. de pozo	Id. de muestra	Tipo de ensayo	Tipo de pozo	Número de Lote de kit	Resultado	Comentario
A1	Cepa R1	E. coli O157	Muestra	2016-09-23	Negativo	
B1	Cepa R2	E. coli O157	Muestra	2016-09-23	Negativo	
C1	Cepa R3	E. coli O157	Muestra	2016-09-23	Negativo	
D1	Cepa + extracto R1	E. coli O157	Muestra	2016-09-23	Negativo	
E1	Cepa+extracto R2	E. coli O157	Muestra	2016-09-23	Negativo	
F1	Cepa+extracto R3	E. coli O157	Muestra	2016-09-23	Negativo	
G1		E. coli O157	Control negativo	2016-09-23	Válido	
H1		E. coli O157	Control de reactivos	2016-09-23	Válido	

Id. de pozo	Id. de muestra	Tipo de ensayo	Tipo de pozo	Número de Lote de kit	Resultado	Comentario
A2	Cepa LR1	L. monocytogenes	Muestra	2017-03-10	Positivo	
B2	Cepa LR2	L. monocytogenes	Muestra	2017-03-10	Positivo	
C2	Cepa LR3	L. monocytogenes	Muestra	2017-03-10	Positivo	
D2	Cepa+Extracto LR1	L. monocytogenes	Muestra	2017-03-10	Positivo	
E2	Cepa+extracto LR2	L. monocytogenes	Muestra	2017-03-10	Positivo	
F2	Cepa+extracto LR3	L. monocytogenes	Muestra	2017-03-10	Positivo	
G2		L. monocytogenes	Control negativo	2017-03-10	Válido	
H2		L. monocytogenes	Control de reactivos	2017-03-10	Válido	