



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

DETERMINACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LAS ZONAS DE
PRODUCCIÓN SOBRE EL CONTENIDO DE COMPONENTES
BIOACTIVOS Y LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE CINCO
FRUTAS ANDINAS

Trabajo de Investigación (Graduación). Modalidad: Trabajo Estructurado de Manera Independiente (TEMI), presentado como requisitos previo a la Obtención del Título de Ingeniera Bioquímica, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Este trabajo forma parte del Proyecto “Aprovechamiento de la diversidad genética, agroecológica y las oportunidades de mercado, en la generación de investigación e I&D de tecnologías innovadoras para la agroindustria alimentaria” financiado por la SENESCYT de código PIC-12-INIAP-003, convenio 20120316, actividad 539-022 y el Departamento de Nutrición y Calidad del INIAP.

Por: Myrian Cristina Poveda Núñez

Tutor: Ing. Mg. Dolores Robalino

AMBATO - ECUADOR

2014

Aprobación por el Tutor

En mi calidad de Tutor del trabajo de investigación realizado bajo el tema “DETERMINACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LAS ZONAS DE PRODUCCIÓN SOBRE EL CONTENIDO DE COMPONENTES BIOACTIVOS Y LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE CINCO FRUTAS ANDINAS”, realizada por la Egresada Myrian Cristina Poveda Núñez; certifico que el trabajo realizado reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del Tribunal de Grado, que el Honorable Consejo Directivo designe, para su correspondiente estudio y calificación.

Ambato, Marzo del 2014

Ing. Mg. Dolores Robalino

TUTOR

Autoría de la Tesis

El presente trabajo de investigación: “DETERMINACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LAS ZONAS DE PRODUCCIÓN SOBRE EL CONTENIDO DE COMPONENTES BIOACTIVOS Y LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE CINCO FRUTAS ANDINAS”, es absolutamente original, auténtico y personal, en tal virtud, el contenido, efectos legales y académicos que se desprenden del mismo son de exclusiva responsabilidad de la autora, del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP y de la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia y Tecnología SENESCYT

Ambato, Marzo del 2014

Myrian Cristina Poveda Núñez

180447488-8

Aprobación del Tribunal de Grado

Los miembros del Tribunal de Grado aprueban el Trabajo de Graduación de acuerdo a las disposiciones emitidas por la Universidad Técnica de Ambato.

Ambato, Marzo del 2014

Para constancia firman:

Ing. Gladys Navas
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dedicatoria

A Dios por darme la vida, guiarme por el camino del bien, protegerme, darme fuerza para seguir adelante y cumplir mis objetivos.

A mis Padres: Patricia y Ángel, por su comprensión, cariño, apoyo moral, económico e incondicional en cada paso de mi vida.

A Mauricio, Maritza, Javier y a mi hermana Lili por brindarme su apoyo, alegría y estar presentes en los momentos buenos y malos

Myrian Cristina

Agradecimientos

Al Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INAP), al equipo de trabajo del Departamento de Nutrición y Calidad, en especial a la Dra. Susana Espín y Verónica Taco por darme la oportunidad de realizar mi trabajo de titulación por su apoyo, por compartir su tiempo, su experiencia y conocimientos que me servirán para desarrollarme profesionalmente.

A la Universidad Técnica de Ambato y a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, por haberme formado profesional y personalmente. A todos quienes fueron mis profesores en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, gracias por su apoyo y conocimientos brindados a lo largo de mis años de carrera.

A la Ing. Mg. Dolores Robalino por que con su apoyo incondicional y comprensión, ha sabido guiarme en el desarrollo de mi proyecto de tesis.

A mis amigos Dr. Iván Samaniego, Bladimir Ortiz y Wilma Llerena quienes me han brindado su amistad verdadera, cariño y apoyo en los momentos difíciles en todo este tiempo.

A la Ing. Beatriz Brito, Dr. Armando Rubio, Naty, Gladys, Gaby, Carlitos, Cristina Flores quienes me han brindado su apoyo y amistad.

A mis dos amigas Taty y Adry y a todos mis compañeritos por los momentos inolvidables que compartimos a lo largo de nuestra carrera universitaria.

Myrian Cristina

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

A. PAGINAS PRELIMINARES

Tema.....	i
Aprobación por el Tutor	ii
Autoría de la Tesis	iii
Aprobación del Tribunal de Grado.....	iv
Dedicatoria	v
Agradecimientos.....	vi
Índice general de contenidos.....	vii
Resumen ejecutivo	xviii

B. TEXTO

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Tema de Investigación.....	1
1.2. Planteamiento del problema	1
1.2.1. Contextualización	2
1.2.1.1. Macro	2
1.2.1.2. Meso.....	3
1.2.1.3. Micro.....	4
1.2.2. Análisis crítico	5
1.2.3. Relación Causa – Efecto	5
1.2.4. Prognosis	6
1.2.5. Formulación del problema	6
1.2.6. Preguntas directrices.....	7
1.2.7. Delimitación.....	7
1.3. Justificación	8
1.4. Objetivos.....	8

1.4.1.Objetivo General	8
1.4.2.Objetivos Específicos	9

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes investigativos	10
2.2. Fundamentación Teórica - Científica.....	11
2.2.1. Frutas andinas.....	11
2.2.1.1. Ciruela (<i>Spondias purpurea</i>)	11
2.2.1.2. Uvilla (<i>Physalis peruviana</i> L.)	13
2.2.1.3. Mora (<i>Rubus glaucus</i> Benth).....	15
2.2.1.4. Naranjilla (<i>Solanum quitoense</i> Lam.).....	18
2.2.1.5. Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i> Cav).....	20
2.3. Fundamentación Filosófica.....	22
2.4. Fundamentación Legal.....	23
2.5. Categorías Fundamentales	24
2.5.1. Marco Teórico de la Variable Dependiente	25
2.5.2. Marco Teórico de la Variable Independiente	30
2.6. Hipótesis.....	31
2.7. Señalamiento de variables	31
2.7.1. Variable Dependiente	31
2.7.2. Variable Independiente.....	31

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. Enfoque	32
3.2. Modalidad básica de la investigación	32
3.3. Nivel o tipo de investigación	32
3.4. Población y muestra	33
3.4.1. Fruta y procedencia.....	33
3.4.2. Lugar y pruebas del ensayo	34

3.6. Operacionalización de variables.....	35
3.7. Recolección de información	37
3.7.1. Procesamiento y análisis.....	37
3.7.1.1. Análisis Estadístico.....	37
3.7.1.2. Análisis de Correlación.....	37

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Análisis de los resultados	38
4.1.1 Determinación de capacidad antioxidante y compuestos bioactivos en mora.	40
4.1.2. Determinación de capacidad antioxidante y compuestos bioactivos en uvilla.	41
4.1.3. Determinación de capacidad antioxidante y compuestos bioactivos en naranja.	42
4.1.4. Determinación de capacidad antioxidante y compuestos bioactivos en tomate de árbol.	42
4.1.5. Determinación de capacidad antioxidante y compuestos bioactivos en ciruela.....	43
4.1.6. Análisis de Correlación.....	44
4.2. Interpretación de resultados	56
4.2.1. Análisis estadístico para mora.....	57
4.2.1.1. Análisis estadístico de Vitamina C (mg ac. ascórbico / 100 g muestra fresca)	57
4.2.1.2. Análisis estadístico de Polifenoles Totales (mg ac. gálico/100 g muestra liofilizada).	58
4.2.1.3. Análisis estadístico de Flavonoides Totales (mg quercetina /100 g muestra liofilizada).	59
4.2.1.4. Análisis estadístico de Capacidad Antioxidante (ORAC) (umol Trolox /g muestra liofilizada)	60
4.2.1.6. Análisis estadístico de Carotenoides para la mora de las dos zonas de producción.....	62
4.2.2. Análisis estadístico para uvilla.....	63

4.2.2.1. Análisis estadístico de vitamina C	63
4.2.2.3. Análisis estadístico de Flavonoides para la Uvilla de las dos zonas de producción.....	65
4.2.2.4. Análisis estadístico de Capacidad Antioxidante (ORAC) para la Uvilla de las dos zonas de producción.....	66
4.2.2.5. Análisis estadístico de Carotenoides para la Uvilla de las dos zonas de producción.....	67
4.2.3. Análisis estadístico en naranjilla.....	68
4.2.3.1. Análisis estadístico de vitamina C para Naranjilla de las dos zonas de producción.....	68
4.2.3.2. Análisis estadístico de Polifenoles para la Naranjilla de las dos zonas de producción.....	69
4.2.3.3. Análisis estadístico de Flavonoides para la Naranjilla de las dos zonas de producción.....	70
4.2.3.4. Análisis estadístico de Capacidad Antioxidante (ORAC) para la Naranjilla de las dos zonas de producción.....	71
4.2.3.5. Análisis estadístico de Carotenoides para la Naranjilla de las dos zonas de producción.....	72
4.2.4. Análisis estadístico en tomate de árbol	73
4.2.4.1. Análisis estadístico de vitamina C para Tomate de árbol de las dos zonas de producción.....	73
4.2.4.2. Análisis estadístico de Polifenoles para Tomate de árbol de las dos zonas de producción.....	74
4.2.4.3. Análisis estadístico de Flavonoides para Tomate de árbol de las dos zonas de producción.....	75
4.2.4.4. Análisis estadístico de Capacidad Antioxidante (ORAC) para Tomate de árbol de las dos zonas de producción	76
4.2.4.5. Análisis estadístico de Carotenoides para la Tomate de árbol de las dos zonas de producción.	77
4.2.5. Análisis estadístico en ciruela	79
4.2.5.1. Análisis estadístico de vitamina C para Ciruela de las dos zonas de producción.....	79
4.2.5.2. Análisis estadístico de Polifenoles para Ciruela de las dos zonas de producción.....	80

4.2.5.3. Análisis estadístico de Flavonoides para Ciruela de las dos zonas de producción.....	81
4.2.5.4. Análisis estadístico de Capacidad Antioxidante (ORAC) para Ciruela de las dos zonas de producción.....	82
4.2.5.5. Análisis estadístico de Carotenoides para la Ciruela de las dos zonas de producción.....	83
4.3. Verificación de hipótesis.....	84

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones.....	85
5.2. Recomendaciones.....	86

CAPÍTULO VI

PROPUESTA

6.1. Datos informativos.....	87
6.1.1. Título.....	87
6.1.2. Institución ejecutora.....	87
6.1.3. Beneficiarios.....	87
6.1.4. Ubicación.....	87
6.1.5. Tiempo estimado para la ejecución.....	87
6.1.6. Equipo técnico responsable.....	88
6.2. Antecedentes de la propuesta.....	88
6.3. Justificación.....	89
6.4. Objetivos.....	89
6.4.1. Objetivo General.....	89
6.4.2. Objetivos Específicos.....	89
6.5. Análisis de factibilidad.....	89
6.6. Fundamentación.....	90
6.7. Metodología.....	90

6.8. Administración	92
6.9. Previsión de la evaluación	92
Bibliografía	94
Anexos.....	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Caracterización química de la uvilla (<i>Physalis peruviana</i> L.), ecotipo Golden keniana.	14
Tabla 2. Caracterización química de la pulpa de 2 variedades de mora de Castilla (<i>Rubus glaucus</i>).	16
Tabla 3. Composición físico, químico y nutricional de la pulpa de la variedad de naranjilla INIAP Quitoense 2009, Datos en base fresca.....	19
Tabla 4. Caracterización química de cuatro cultivares de Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i> Cav.).....	21
Tabla 5. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos y la capacidad antioxidante para mora (<i>Rubus glaucus</i> Benth).....	45
Tabla 6. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos y la capacidad antioxidante para uvilla (<i>Physalis peruviana</i> L.).....	46
Tabla 7. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos y la capacidad antioxidante para naranjilla (<i>Solanum Quitoense</i> Lam.).....	47
Tabla 8. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos y la capacidad antioxidante para tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i> Cav).....	48
Tabla 9. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos y la capacidad antioxidante para ciruela (<i>Spondias purpurea</i>).	50
Tabla 10. Análisis de Varianza para la Variable Vitamina C	57
Tabla 11. Análisis de Varianza para la Variable Polifenoles	58
Tabla 12. Análisis de Varianza para la Variable Flavonoides.....	59
Tabla 13. Análisis de Varianza para la Variable ORAC.....	60
Tabla 14. Análisis de Varianza para la Variable Antocianinas	61
Tabla 15. Análisis de Varianza para la Variable Carotenoides.....	62
Tabla 16. Análisis de Varianza para la Variable Vitamina C	63
Tabla 17. Análisis de Varianza para la variable Polifenoles	64
Tabla 18. Análisis de Varianza para la Variable Flavonoides.....	65

Tabla 19. Análisis de Varianza para la Variable ORAC.....	66
Tabla 20. Análisis de Varianza para la Variable Carotenoides.....	67
Tabla 21. Análisis de Varianza para la Variable Vitamina C	68
Tabla 22. Análisis de Varianza para la Variable Polifenoles	69
Tabla 23. Análisis de Varianza para la Variable Flavonoides.....	70
Tabla 24. Análisis de Varianza para la Variable ORAC.....	71
Tabla 25. Análisis de Varianza para la Variable Carotenoides.....	73
Tabla 26. Análisis de Varianza para la Variable Vitamina C	74
Tabla 27. Análisis de Varianza para la Variable Polifenoles	75
Tabla 28. Análisis de Varianza para la Variable Flavonoides.....	76
Tabla 29. Análisis de Varianza para la Variable ORAC.....	77
Tabla 30. Análisis de Varianza para la Variable Carotenoides.....	78
Tabla 31. Análisis de Varianza para la Variable Vitamina C	79
Tabla 32. Análisis de Varianza para la Variable Polifenoles	80
Tabla 33. Análisis de Varianza para la Variable Flavonoides.....	81
Tabla 34. Análisis de Varianza para la Variable Capacidad antioxidante (ORAC)	82
Tabla 35. Análisis de Varianza para la Variable Carotenoides.....	83

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Zonas de producción para cada fruta en estudio.....	33
Cuadro 2. Frutas a ser estudiadas en la investigación.....	35
Cuadro 3. Variable Dependiente: Componentes Bioactivos y Capacidad Antioxidante.....	35
Cuadro 4. Variable Independiente: Zonas de Producción	36
Cuadro 5. Contenido total de polifenoles, vitamina C, carotenoides, antocianinas, flavonoides y capacidad antioxidante de cinco frutas andinas (media \pm desviación estándar).....	38
Cuadro 6. Contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en muestras de mora provenientes de la zona de producción de Ambato, provincia de Tungurahua y Guaranda, provincia de Bolívar.	40

Cuadro 7. Contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en muestras de uvilla provenientes de la zona de producción de Píllaro, provincia de Tungurahua y Mejía, provincia de Pichincha.	41
Cuadro 8. Contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en muestras de naranjilla provenientes de la zona de producción de Archidona provincia de Napo y El Reventador, provincia de Sucumbíos.	42
Cuadro 9. Contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en muestras de tomate de árbol provenientes de la zona de producción de Pelileo provincia de Tungurahua y Chaltura, provincia de Imbabura.	43
Cuadro 10. Contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en muestras de ciruela provenientes de la zona de producción de Petrillo, provincia de Guayas y Juntas de Pacífico, provincia de Santa Elena.	44
Cuadro 11. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y factores ambientales para mora de Ambato (Z1) ...	51
Cuadro 12. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y factores ambientales para mora de Guaranda (Z2).	52
Cuadro 13. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y factores ambientales para uvilla de Píllaro (Z1).	52
Cuadro 14. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y factores ambientales para uvilla de Mejía (Z2).	53
Cuadro 15. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y factores ambientales para naranjilla de Archidona (Z1).	53
Cuadro 16. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y factores ambientales para naranjilla del Reventador (Z2).	54
Cuadro 17. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y factores ambientales para tomate de árbol de Pelileo (Z1).	54
Cuadro 18. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y factores ambientales para tomate de árbol de Chaltura (Z2).	55
Cuadro 19. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y factores ambientales para ciruela de Petrillo (Z1). .	55

Cuadro 20. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y factores ambientales para ciruela de Juntas del Pacífico (Z2).....	56
Cuadro 21. Administración de la propuesta.....	92
Cuadro 22. Previsión de la Evaluación.....	92

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Árbol de problemas.....	5
Gráfico 2. Red Lógica de Inclusión.....	24
Gráfico N° 3. Componente de varianza para Vitamina C	57
Gráfico N° 4. Componente de varianza para Polifenoles Totales.....	58
Gráfico N° 5. Componente de varianza para Flavonoides Totales.....	59
Gráfico N° 6. Componente de varianza para capacidad antioxidante (ORAC)	60
Gráfico N° 7. Componente de varianza para Antocianinas Totales.....	61
Gráfico N° 8. Componente de varianza para Carotenoides Totales.....	62
Gráfico N° 10. Componente de varianza para Polifenoles Totales en Uvilla	64
Gráfico N° 11. Componente de varianza para Flavonoides Totales en Uvilla	65
Gráfico N° 12. Componente de varianza para Capacidad antioxidante (ORAC) en Uvilla.....	66
Gráfico N° 13. Componente de varianza para Carotenoides Totales en Uvilla. ...	67
Gráfico N° 14. Componente de varianza para Vitamina C en Naranja.....	69
Gráfico N° 15. Componente de varianza para Polifenoles Totales en Naranja..	70
Gráfico N° 16. Componente de varianza para Polifenoles Totales en Naranja..	71
Gráfico N° 17. Componente de varianza para capacidad antioxidante (ORAC) en Naranja.....	72
Gráfico N° 18. Componente de varianza para Carotenoides Totales en Naranja	73
Gráfico N° 19. Componente de varianza para Vitamina C en Tomate de árbol ...	74
Gráfico N° 20. Componente de varianza para Polifenoles Totales en Tomate de árbol.....	75
Gráfico N° 21. Componente de varianza para Flavonoides Totales en Tomate de árbol.	76

Gráfico N° 22. Componente de varianza para Capacidad antioxidante (ORAC) en Tomate de árbol.	77
Gráfico N° 23. Componente de varianza para Carotenoides Totales en Tomate de árbol.....	78
Gráfico N° 24. Componente de varianza para Vitamina C en Ciruela.	79
Gráfico N° 25. Componente de varianza para Polifenoles Totales en Ciruela.	80
Gráfico N° 26. Componente de varianza para Flavonoides Totales en Ciruela ...	81
Gráfico N° 27. Componente de varianza para Capacidad antioxidante (ORAC) en Ciruela.	82
Gráfico N° 28. Componente de varianza para Carotenoides Totales en Ciruela .	83
Gráfico 29. Diagrama de procesos de identificación de componentes bioactivos por HPLC.....	91

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciruelo (<i>Spondias purpurea</i>)	12
Figura 2. Uvilla (<i>Physalis peruviana</i> L.)	13
Figura 3. Mora (<i>Rubus glaucus</i> Benth).....	15
Figura 4. Naranjilla (<i>Solanum quitoense</i> Lam.)	18
Figura 5. Tomate de Árbol (<i>Solanum betaceum</i> Cav)	20
Figura 6. Estructura química del β - caroteno.....	25
Figura 7. Estructura del ácido gálico	26
Figura 8. Estructura química del ácido L- ascórbico (Vitamina C).....	27
Figura 9. Estructura química de las antocianinas.....	28
Figura 10. Estructura química del esqueleto básico de los flavonoides.	29
Figura 11. Curva estándar de Trolox.....	30
Figura 12. Correlación entre compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en mora	46
Figura 13. Correlación entre compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en uvilla.	47
Figura 14. Correlación entre compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en naranjilla.	48

Figura 15. Correlación entre compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en tomate de árbol.....	49
Figura 16. Correlación entre compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en ciruela.....	50

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A – 1. Determinación de polifenoles totales	101
Anexo A – 2. Determinación de vitamina c.....	104
ANEXO A – 3. Determinación de carotenoides totales	106
ANEXO A – 4. Determinación de antocianinas totales.....	108
ANEXO A – 5. Determinación de flavonoides totales.....	110
ANEXO A – 6. Determinación de la capacidad antioxidante por el método ORAC	113
ANEXO B - 1. Muestreo de frutas estudiadas	122
ANEXO B - 2. Procesamiento de las frutas.....	123
ANEXO B - 3. Determinación de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante	124

RESUMEN EJECUTIVO

La capacidad antioxidante y los compuestos bioactivos en la actualidad son de gran importancia en el campo industrial y alimentario, debido a sus múltiples beneficios en la salud humana y en la prevención de enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer. Por estos motivos las industrias alimentarias están desarrollando alimentos funcionales que proporcionen un aporte adicional de estos compuestos naturales ya existente en especial en las frutas.

En este estudio, se determinó la influencia de las zonas de producción sobre el contenido de los componentes bioactivos y la capacidad antioxidante de cinco frutas ecuatorianas: Tomate de Árbol (*Solanum betaceum* Cav), Mora (*Rubus glaucus* Benth), Naranjilla (*Solanum Quitoense* Lam.), Uvilla (*Physalis peruviana* L.) y Ciruela (*Spondias purpurea*) en su estado de madurez comestible. Se trató cada fruta independientemente procediendo a liofilizarlas a fin de preservar el contenido de los compuestos analizados. La muestra liofilizada fue utilizada para cada uno de los análisis excepto el análisis de vitamina C que se lo realizó con muestra fresca.

Se evaluó la capacidad antioxidante con el método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) y se determinó las concentraciones de antocianinas, carotenoides, polifenoles, flavonoides y vitamina C; existiendo diferencias entre el contenido de estos componentes en cada fruta y la zona de producción a la que pertenece cada una de ellas. Los valores encontrados fluctúan entre: 109,16 ± 50,47 - 5085,58 ± 460,49 mg ac. gálico/100 g muestra liofilizada para polifenoles totales, 17,56 ± 0,69 - 53,00 ± 2,49 mg ac. ascórbico/ 100 g muestra fresca para vitamina C, 9,03 ± 1,72 - 61,03 ± 9,46 µg/g muestra liofilizada, 17,58 ± 0,93 - 125,16 ± 17,48 mg quercetina /100g muestra liofilizada para flavonoides, 23,04 ± 4,58 - 527,51 ± 65,21 µmol Trolox/g muestra liofilizada para capacidad antioxidante y para el caso de antocianinas se encontró solo en mora de la zona 1 y 2 con

valores de $1694,89 \pm 87,44$ - $1388,03 \pm 213,21$ mg/100g muestra liofilizada respectivamente.

El análisis estadístico realizado, determinó que existen diferencias significativas en las zonas de producción, excepto polifenoles totales en tomate de árbol ya que las dos zonas y sus observaciones son similares. Además en los coeficientes de correlación realizados se muestra que para algunos casos existe una buena correlación entre variables y zonas de producción.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Tema de Investigación

Determinación de la influencia de las zonas de producción sobre el contenido de componentes bioactivos y la capacidad antioxidante de cinco frutas andinas.

1.2. Planteamiento del problema

La alimentación aporta sustancias necesarias para el metabolismo humano, pero es justamente este mecanismo el que, al mismo tiempo produce especies secundarias como radicales libres muy reactivos y oxidantes con efectos negativos para la salud. Los seres vivos, tienen un complejo sistema, para hacer frente a esta oxidación y en especial los vegetales por estar expuestos a la radiación solar. Ciertas sustancias llamadas antioxidantes, desde vitaminas hasta polifenoles, bloquean la acción de estos radicales libres (Almajano, 2009). Los antioxidantes son compuestos bioactivos, que cada día cobran mayor importancia debido al papel que desempeña en la salud humana, puesto que previenen y eliminan aquellas sustancias potencialmente nocivas y generadoras de desórdenes y enfermedades en el ser humano (Huang *et al.*, 2005).

Actualmente en el Ecuador, existe escasa información sobre la caracterización de compuestos bioactivos de frutas andinas así como su correlación con la capacidad antioxidante y las zonas de producción, aspectos que se pretende alcanzar a través del proyecto para la valorización de estos cultivos, la reactivación económica de sectores productivos y la generación de nuevos ingredientes para la producción de alimentos funcionales.

1.2.1. Contextualización

1.2.1.1. Macro

En los últimos años se ha incrementado el interés por parte de las industrias alimentarias y los consumidores por el concepto de “alimento funcional”. Los consumidores están cada vez interesados en alimentos más saludables y la industria alimentaria ha comprendido la potencialidad del mercado de los alimentos funcionales, es por ello que se ha iniciado a nivel mundial una intensa actividad investigadora en el área de estos nuevos alimentos. El término alimento funcional hace referencia a los alimentos o ingredientes que mejoran el estado general de salud y/o reducen el riesgo de enfermedad (Leyva, 2009).

Asimismo, la Comisión para el Desarrollo Sostenible de la Unión Europea (EU), en relación con la “Estrategia para Europa sobre nutrición, sobrepeso y obesidad” indica que la salud debe ser una prioridad para todas las políticas y actividades de la Comunidad, debiéndose promover el consumo de una dieta saludable que juega un papel importante en la prevención de las enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, fundamentalmente a través de la ingestión de compuestos bioactivos de origen vegetal (Almajano, 2009).

Los alimentos además de aportar nutrientes, contienen una serie de sustancias no nutritivas que intervienen en el metabolismo secundario de los vegetales: sustancias colorantes (pigmentos), aromáticas, reguladores del crecimiento, protectores naturales frente a parásitos y otros, que no tienen una función nutricional clásicamente definida, o no son considerados esenciales para la salud humana, pero que pueden tener un impacto significativo en el curso de alguna enfermedad, son sustancias bioactivas (Palencia, 2012). En las frutas encontramos compuestos bioactivos como los flavonoides (antocianinas), carotenoides y vitaminas cuya capacidad antioxidante está determinada por su estructura química. (Huang *et al.*, 2005).

Los compuestos fenólicos pueden actuar, como donantes de hidrógeno o electrones en las reacciones de terminación, que rompen el ciclo de generación de nuevos radicales libres, actuando como agentes antirradicalarios. El radical fenoxil generado es menos reactivo, ya que se estabiliza por resonancia con los electrones π del anillo aromático. Para determinar la capacidad antioxidante en frutas existen diferentes métodos como son: TEAC (del inglés Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), ORAC (del inglés Oxigen Radical Absorbance Capacity), DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) entre los más utilizados. (Rufino *et al.*, 2012).

1.2.1.2. Meso

A nivel de América se ha realizado múltiples investigaciones en diferentes frutas como es el caso de la mora en México para conocer sus beneficios sobre la salud humana. Asimismo, el Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA) de la Universidad de Costa Rica investiga la capacidad antioxidante de frutas tropicales y sus derivados, que se encuentran disponibles en el mercado local, ante la poca información existente, siendo un tema de interés no solo para el público en general, sino también para expertos en el campo de la medicina y la nutrición, e investigadores ligados a la ciencia de alimentos y la salud (CITA, 2010).

Muchos estudios se han centrado en bayas como arándano, uva, mora, fresa, frambuesa, y productos derivados como jugos, bebidas o vino, mientras que las compañías de alimentos y bebidas promocionan la presencia de antioxidantes en sus productos, en respuesta al interés de los consumidores por los beneficios potenciales para la salud asociados con los antioxidantes en la dieta. En Estados Unidos se encuentran bebidas listas para consumo, ricas en polifenoles, cuyas estrategias de mercadeo se basan en su poder antioxidante y contienen granada roja (*Punica granatum*), arándano azul y rojo (*Vaccinium spp.*), mora (*Rubus spp.*), uva de la variedad Concord, manzana, además de bebidas a base de té (Perez, 2009).

1.2.1.3. Micro

En el Ecuador la fruticultura es una de las actividades más relevante, la superficie frutícola en la Costa, Sierra y Amazonía alcanza 163.000 ha (sin incluir banano) y da trabajo a más de 120.000 productores, la fruticultura de la costa es destinada principalmente a la exportación en fresco y procesada. Mientras que la agricultura de la sierra es destinada al mercado nacional y la agroindustria (Vásquez, 2011)

Sin embargo, el reconocimiento científico de la capacidad funcional de algunas frutas es esencial para confirmar su estatus de promisorias y transformar en una realidad su explotación comercial razonada en beneficio de los pequeños agricultores de la región (Brito, 2009).

Vasco y colaboradores(2008), determinaron el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de diecisiete frutas ecuatorianas, trece de ellas no habían sido estudiadas anteriormente. Los resultados mostraron una amplia variación en el contenido de compuestos bioactivos y con un contenido de capacidad antioxidante, distinguida en tres grupos bien marcados de alto, medio y bajo; siendo la mora uno de los cultivos novedosos que ameritan profundizar su estudio ya que presentó valores altos en los parámetros químicos evaluados.

La mora de especie *Rubus glaucus* ha sido estudiada en los últimos años por diversos autores (Vasco *et al.*, 2008 y 2009, Garzón *et al.*, 2009, Mertz *et al.*, 2007, Vrhovsek *et al.*, 2006, Ramos *et al.*, 2005 y Gómez *et al.*, 2005) con el objetivo de conocer su composición, sus propiedades y su comportamiento. Se sabe de su elevado contenido en polifenoles (2167 mg GAE/ 100 g de muestra) muy superior a otras frutas como la fresa, el mango o la ciruela, tomate de árbol, naranjilla y uvilla, aunque hay que tener en cuenta su amplia variabilidad entre la cosecha, el clima, la madurez así como el método de análisis. También se destaca por su capacidad antioxidante y su contenido en antocianas (Salvatierra, 2011).

1.2.2. Análisis crítico

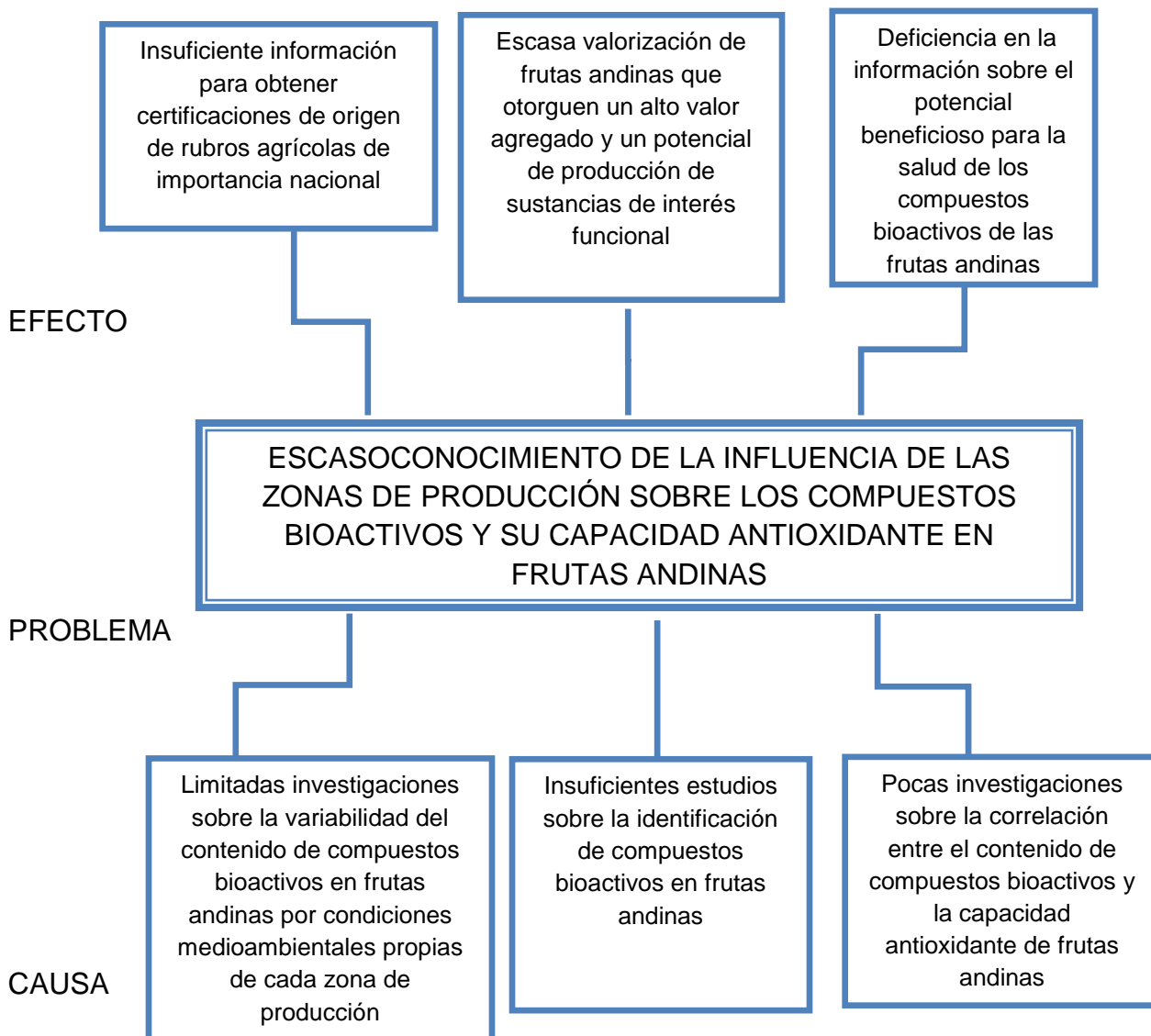


Gráfico 1. Árbol de problemas
Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

1.2.3. Relación Causa – Efecto

Las condiciones medioambientales como altitud, temperatura, humedad relativa y precipitación anual que caracterizan a las distintas zonas de producción de los

frutales a estudiar, podrían tener efecto sobre el contenido de compuestos bioactivos y su capacidad antioxidante.

Por tanto, la investigación trata de determinar la influencia de las zonas de producción de seis frutas andinas sobre el contenido de componentes bioactivos y su correlación con la capacidad antioxidante total determinada por el método ORAC(Oxygen Radical Absorbance Capacity). Este estudio servirá para seleccionar el material más relevante para ser incorporado en un alimento funcional.

1.2.4. Prognosis

Al no realizarse esta investigación la deficiencia de información sobre la influencia de las zonas de producción en el contenido de componentes bioactivos de frutas andinas y su correlación con la capacidad antioxidante seguirá siendo una limitante para el aprovechamiento óptimo de compuestos biológicamente activos de frutas y en la aplicación de tecnologías innovadores que buscan nuevas formas de uso y consumo en el campo agroalimentario y en la industria farmacéutica.

1.2.5. Formulación del problema

El presente estudio se fundamenta en la “Determinación de la influencia de las zonas de producción sobre el contenido de componentes bioactivos y la capacidad antioxidante de cinco frutas andinas: Tomate de Árbol (*Solanum betaceum* Cav), Mora (*Rubus glaucus* Benth), Naranjilla (*Solanum Quitoense* Lam.), Uvilla (*Physalis peruviana* L.) y Ciruela (*Spondias purpurea*).

Problema: ¿La zona de producción influirá sobre el contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de frutas andinas?

Variable Dependiente: Componentes bioactivos y capacidad antioxidante

- Polifenoles

- Antocianinas
- Carotenoides
- Flavonoides
- Vitamina C
- Capacidad antioxidante

Variable Independiente:Zonas de producción

1.2.6. Preguntas directrices

¿Las zonas de producción influyen sobre el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante en las frutas en estudio?

¿Habrá relación entre el contenido de compuestos bioactivos con la capacidad antioxidante?

¿Se encontrará en alguna de las frutas evaluadas un componente biológico para ser utilizado como ingrediente en un alimento funcional?

1.2.7. Delimitación

Campo: Alimentos

Área: Frutas andinas

Aspecto: Antioxidantes en frutas andinas

Espacial: El proyecto de investigación se ejecutará en el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación Experimental Santa Catalina, Laboratorios del Departamento de Nutrición y Calidad.

1.3. Justificación

En el Ecuador existe escaso conocimiento para el aprovechamiento óptimo de compuestos biológicamente activos de frutas y por lo tanto no se las aprovecha debidamente en la aplicación de tecnologías innovadoras que buscan nuevas formas de uso y consumo en el campo agroalimentario, y en la industria farmacéutica.

Actualmente, el INIAP dispone de resultados de investigaciones realizadas sobre las características físicas, químicas y funcionales en algunos materiales identificados de arazá, borjón, camu camu, chirimoya, cocona, copoazú, granadilla, guayaba, mango, tampoi y uvilla, encontrándose en fase de investigación los nuevos materiales de mora, naranjilla, y tomate de árbol, frutales que se destacan por sus excelentes condiciones de adaptación y por su potencial económico, constituyéndose en importantes insumos para mejorar la seguridad alimentaria, la nutrición y la salud de la población ecuatoriana tanto rural como urbana. Sin embargo, no se ha llegado a obtener los componentes bioactivos de las frutas, ni se ha logrado una caracterización más profunda de los mismos, para su mejor aprovechamiento.

Los resultados obtenidos en el trabajo servirán de base para dar continuidad al proyecto “Aprovechamiento de la diversidad genética, agroecológica y las oportunidades de mercado, en la generación de investigación e (I&D) de tecnologías innovadoras para la agroindustria alimentaria” que se desarrolla en el INIAP, pues permitirá definir los mejores materiales para la obtención de compuestos bioactivos de las frutas estudiadas, los cuales serán usados como nuevos ingredientes en el desarrollo de alimentos funcionales.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General

- Determinar la influencia de las zonas de producción sobre el contenido de componentes bioactivos y la capacidad antioxidante de cinco frutas andinas.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Correlacionar el contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante con las zonas de producción.
- Establecer la relación entre los contenidos de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante.
- Identificar al menos un compuesto bioactivo de la fruta, con las mejores propiedades antioxidantes, por Cromatografía Líquida de Alta Resolución acoplado a masas(HPLC – MS) para su posterior incorporación a un alimento funcional.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes investigativos

Diferentes métodos analíticos han sido desarrollados para determinar el potencial antioxidante de los alimentos, tales como ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*), FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) y la medición de la capacidad barredora de radicales libres con el reactivo DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*). Sin embargo, el método ORAC utiliza una fuente de radical libre biológicamente relevante (Prior *et al.*, 2003) considerada por diferentes autores como representativa de la actividad antioxidante in vivo y ha recibido el reconocimiento de la industria como método de elección para cuantificar la capacidad “barredora” o “secuestrante” de los radicales peroxilo en una muestra (Huang *et al.*, 2005).

Estudios realizados por Vasco *et al.*, (2008) sobre compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de diecisiete frutas ecuatorianas muestran que la mora es la fruta con mayor capacidad antioxidante en comparación con el resto de las frutas evaluadas, dando un valor de 41 μmol de Trolox/g muestra fresca determinada por el método DPPH, mientras que, usando en método ORAC los resultados reportados de la capacidad antioxidante en la naranjilla, tomate de árbol y mora fueron 16.4, 8.1 y 42.6 μM Trolox Equivalente /g muestra fresca (Mertz *et al.*, 2009).

Además, el método ORAC ha sido aplicado en una gran variedad de alimentos para evaluar su capacidad antioxidante, constituyéndose en el método más ampliamente utilizado por la industria alimentaria y favoreciendo de esta forma la comparación entre productos relacionados con el mercado de alimentos funcionales (Pérez, 2009).

Las propiedades antioxidantes del ácido ascórbico (vitamina C) y de los compuestos carotenoides han sido ampliamente estudiadas. Se ha encontrado que las características estructurales asociadas a la capacidad antioxidante del ácido ascórbico son su alta capacidad de donación de protones, su capacidad de formación de enolatos (deslocalización de electrones desapareados) y su bajo potencial de oxidación (alto potencial de reducción) (Espinal, 2010).

Gupta-Elera *et al.*, (2011), analizaron el contenido de antioxidantes de la cáscara, pulpa y jugo aislados de la chirimoya usando el método ORAC. El jugo mostró alta actividad antioxidante en comparación con la cáscara y la pulpa. En estudios futuros se analizará el tallo, las hojas y flores de la planta de chirimoya para conocer la composición química y compuestos antioxidantes.

Según Zambrano, 2013 se realizó estudios en capacidad antioxidante por el método de radical libre ABTS y el contenido de fibra dietética total de los cultivos ancestrales andinos y de sus respectivos concentrados de fibra dietética total; los cultivos evaluados fueron: babaco (*Carica pentagona*), uvilla (*Physalis peruviana*), tuna (*Opuntia ficus-indica*), pepino dulce (*Solanum muricatum*), capulí (*Prunus serotina*), amaranto (*Amaranthus caudatus*), mortiño (*Vaccinium floribundum*), taxo (*Passiflora tarminiana*), mora (*Rubus glaucus*) y tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*). Para el cual se obtuvo la mayor capacidad antioxidante en mora y taxo, además se han realizado trabajos sobre capacidad antioxidante en cacao y cereales.

2.2. Fundamentación Teórica - Científica

2.2.1. Frutas andinas

2.2.1.1. Ciruela (*Spondias purpurea*)



Figura 1. Ciruelo (*Spondias purpurea*)

Generalidades de la ciruela (*Spondias purpurea*).-Su nombre deriva del idioma Náhuatl xocotl. Se conoce con diferentes nombres en otros idiomas. En castellano recibe los nombres dependiendo de la región o país: juela ciruela; cirgüelo, ciruela, ciruela agria, ciruela campechana, ciruela colorada, ciruela de coyote, ciruela de hueso; ciruela del país; ciruela de México, ciruela morada, ciruela roja etc.. Es un fruto caroso con una sola semilla, y el mundo existen muchas variedades de este fruto (INEN, 2008). La ciruela crece en palos grandes y frondosos donde cuelgan cantidades de esta fruta por sus ramas. En función del color de su piel, las ciruelas pueden clasificarse en amarillas, rojas, negras y verdes. Las amarillas son frutas de sabor ácido y abundante jugo. Las rojas son jugosas y con un sabor más dulce que las amarillas. Las negras tienen la piel azulada o negruzca y son las más adecuadas para cocer. Las de piel verde se denominan Claudia y se caracterizan por su dulzor (Castillo, 2007).

Usos y propiedades.- Los análisis de los frutos frescos indican que el porcentaje de humedad en la pulpa varía de 76-86 por ciento; es muy bajo en proteínas y grasa, y contiene cantidades apreciables de calcio, fósforo, hierro y ácido ascórbico (El Comercio, 2010).

El principal compuesto de las ciruelas es el agua, seguido de los hidratos de carbono. El aporte de vitaminas no es relevante, destaca su contenido moderado en provitamina A (más abundante en las de color oscuro) y vitamina E (interviene en la estabilidad de las células sanguíneas y en la fertilidad), ambas de acción

antioxidante. Respecto a la transformación o elaboración de la fruta se elabora principalmente como mermelada, se elabora vino y se procesa en jugo. Estas transformaciones ocurren a escala pequeña y uno de los puntos donde se promociona y comercializa es en la localidad de Juntas del Pacífico con motivo de la celebración de la fiesta de la cosecha de la Ciruela, que ocurre en noviembre de cada año (Moreira, 2012).

Ubicación Geográfica.- Los sitios más ancestrales en la cosecha de ciruelas son las comunas alrededor de Juntas del Pacífico, en el antiguo carretero a Santa Elena. También está la zona de Petrillo hasta Nobol, vía a Daule (Guayas). En este último sitio, la tradición tiene 120 años (El Comercio, 2010).

Los suelos donde se cultiva la ciruela, son de textura arcillosa, por lo que 53,84 de los agricultores indicaron que los suelos retienen humedad, y además 15,38% manifestaron que los suelos tienen capacidad de encharcamiento. Cada uno de los productores previo a la siembra de nuevos cultivos, realizan limpieza, cavan un hoyo de 50 cm de profundidad y el 92,3 % adicionalmente realizan quemadas (Moreira, 2012).

2.2.1.2. Uvilla (*Physalis peruviana* L.)



Figura 2. Uvilla (*Physalis peruviana* L.)

Generalidades de la uvilla (*Physalis peruviana*).- Es conocida como uchuva en Colombia, uvilla en Ecuador, aguaymanto en Perú y topo-topo en Venezuela. Esta

planta, originaria de los Andes, se caracteriza por producir su fruto envuelto en un cáliz protector contra insectos, pájaros y condiciones climáticas extremas. La uvilla es una fruta semiácida, redonda, amarilla, dulce y pequeña (aproximadamente entre 1,25 y 2 cm de diámetro). Contiene alrededor de 100 a 200 pequeñas semillas (Cerón, Higuira, & Cardona, 2010).

Usos y propiedades.- Los que tienen la uvilla son varios: como fruta fresca, en dulces, almíbares, mermeladas, pasas, salsas, jugos, vinos, yogures y en repostería. Es ampliamente conocida por sus propiedades fisicoquímicas, nutricionales y medicinales, las cuales son asociadas a la capacidad antioxidante de los polifenoles presentes; es excelente fuente de provitamina A, rica en vitamina C, E, K1 y complejo vitamínico B. Los principales componentes activos de la vitamina A en los frutos son el α -caroteno, β -caroteno y β -criptoxantina (Cerón, Higuira, & Cardona, 2010). El fruto es considerado un alimento energético, portador de carbohidratos y minerales. La composición química y valor nutritivo de la uvilla se muestran en la siguiente tabla (Medina, 2006).

Tabla 1. Caracterización química de la uvilla (*Physalis peruviana* L.), ecotipo Golden keniana.

ANÁLISIS	CANTIDAD
Humedad %	81,26
Cenizas %	5,34
Ph	3,74
Acidez titulable (% Ácido cítrico)	1,26
Vitamina C (mg/100 g)	0,96
Sólidos solubles (° Brix)	13,8
Azúcares totales %	12,26
Azúcares reductores %	4,67
Polifenoles totales (mg/g)	0.56

Carotenoides ($\mu\text{g/g}$)		478.95
Azúcares	Fructosa %	2,70
	Glucosa %	2,63
	Sacarosa %	3,44
Ácidos orgánicos	Ácido cítrico (mg/g)	8,96
	Ácido málico (mg/g)	1,39

Fuente: Medina, G. 2006

Ubicación Geográfica.- La uvilla tiene su origen América principalmente en los valles andinos de Perú, Ecuador y Chile. Las zonas aptas para el desarrollo de los cultivos de uvilla se encuentran en el callejón interandino y en las estribaciones de las cordilleras de todas las provincias de la sierra ecuatoriana, ya que cuentan con una ubicación estratégica y reúnen las condiciones agroclimáticas para el cultivo. Una de las primeras provincias en cultivar comercialmente la uvilla fue Cotopaxi, luego las plantaciones se extendieron a Tungurahua y Pichincha y en los tres últimos años, Imbabura tomó la posta con plantaciones en Urcuquí y Atuntaqui (Altamirano, 2010).

2.2.1.3. Mora (*Rubus glaucus* Benth)



Figura 3. Mora (*Rubus glaucus* Benth)

Generalidades de la mora (*Rubus glaucus* Benth).- Es comunmente conocida como mora de Castilla, el fruto es muy apetecido por su atractiva apariencia y su exquisito sabor y aroma. Algunos investigadores se han dedicado a estudiar la mora en todas sus características sean estas: morfológicas, ecológicas, nutricionales, etc. El fruto de la mora de castilla, es el conjunto de pequeñas drupas que le dan la forma cónica ovalada, con punta redondeada, de tamaño entre 3 y 4 cm. De largo y diámetro de 3 a 4cm; de color rojo púrpura o morado brillante, atractivo, de sabor agri-dulce cuando la madurez es incompleta; y dulce, de color negro morado-oscuro brillante cuando está completamente maduro. Los frutos se forman en racimos grandes al final de cada tallo y rama secundaria, el mismo autor anterior, menciona que las semillas son pequeñas y muy poco visibles, estas semillas son poco visibles y generalmente no son muy utilizadas en propagación ya que requiere demasiado tiempo para llegar a hacer una planta productiva y rentable (Pérez, 2011).

Usos y Propiedades .- Las moras son frutos con bajo calor calórico por su escaso aporte de carbohidratos. Sin embargo son muy ricas en vitamina C, aportan fibra, potasio, hierro, calcio y taninos (sustancias con acción astringente y diversos ácidos orgánicos. Se caracterizan por su contenido de pigmentos naturales tales como los antocianos que son sustancias con acción antioxidante, es decir, que previenen el desarrollo de ciertas enfermedades y tipos de cáncer (Cabezas, 2008).

Tabla 2. Caracterización química de la pulpa de 2 variedades de mora de Castilla (*Rubus glaucus*).

ANÁLISIS	AP009	AP026
pH	2,82 ± 0,07	2,96 ± 0,02
Acidez Titulable (g/100 g ac. Cítrico)	2,47 ± 0,11	2,51 ± 0,20
Sólidos Solubles (°Brix)	13,4 ± 0,53	12,73 ± 0,12

Humedad (g/100g)		84,15 ± 0,53	85,28 ± 0,47
Cenizas (g/100g)		4,88 ± 0,03	3,98 ± 0,01
Extracto Etéreo (g/100g)		3,09 ± 0,06	3,11 ± 0,06
Proteína (g/100g)		9,82 ± 0,21	7,62 ± 0,11
Fibra (g/100g)		5,80 ± 0,12	8,59 ± 0,09
Carbohidratos Totales (g/100g)		76,38 ± 0,35	76,72 ± 0,13
Azúcares Totales (g/100 g)		43,62 ± 2,87	39,35 ± 0,30
Azúcares Reductores (g/100g)		37,69 ± 1,67	38,40 ± 1,60
Vitamina C (mg/100g)		117,16 ± 3,1	76,63 ± 3,74
Polifenoles Totales (mg/g)		46,10 ± 0,47	46,05 ± 2,18
Carotenoides Totales (µg/g)		5,70 ± 1,03	7,76 ± 0,78
Minerales (µg/g)	Calcio	2100	2400
	Magnesio	2100	1800
	Fósforo	2100	1400
	Potasio	20400	10760
	Sodio	500	200
	Hierro	23	28
	Zinc	55	18
	Manganeso	32	29
	Cobre	1	1

Fuente: Montalvo Daniela, 2011

Ubicación Geográfica.- La mora de Castilla *Rubus glaucus* fue descubierta por Hartw y descrita por Benth. Es originaria de las zonas altas tropicales de América principalmente en Colombia, Ecuador, Panamá, Guatemala, Honduras, México y Salvador(Cabezas, 2008).

Lamora es propia de climas fríos; la mora de castilla produce y desarrolla mejor al estar en un medio ecológico adecuado y requiere menor cuidado. Los sectores más apropiados están comprendidos desde los 1500 a 2800m.s.n.m, pues a mayores altitudes corre el riesgo de ser afectado por la incidencia de heladas, cuya temperatura media está entre 10 y 18 grados-10-centígrados, con precipitaciones de 500 a 1000 mm anuales. La planta de mora requiere de 80 al 90% de humedad relativa durante todas las fases de su ciclo vegetativo, especialmente para la fructificación, la mora es susceptible a heladas por ello se debe conocer muy bien el microclima de la zona donde se desee implantar el cultivo (Pérez , 2011).

2.2.1.4. Naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.)



Figura 4. Naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.)

Generalidades de la naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.).- La naranjilla tiene un delicioso sabor y aroma, su cáscara cuando esta madura es de color naranja, con una envoltura de finas y pequeñas espinas o “vellocidades”, de forma entre redonda y ovalada. En su interior esta dividido en cuatro compartimientos separados por membranas que contienen la pulpa de color amarillo y verde-amarillento con numerosas semillas pequeñas esta fruta por la exquisitez de su jugo es popular a nivel nacional e internacional, siendo rica en vitaminas A, B1, B2 y con alta concentración de minerales, principalmente (Jara, 2011).

Usos y Propiedades.- Tiene un amplio mercado en la industria de alimentos, principalmente en la fabricación de jugos, néctares, pulpas y mermeladas. Además se caracteriza por su olor y sabor agrisado, su pH varía entre 3,1-3,3. El fruto

tiene un porcentaje de fibra entre 0,3 y 1,54% y una humedad entre 90,6 - 92,5%. El fruto de la naranjilla es una importante fuente de vitaminas y minerales que contribuyen a la salud, como algunos carotenoides precursores de la vitamina A (Vasco et al., 2008), con un contenido de $33,3 \pm 0,6 \mu\text{g/g}$ en el fruto fresco entero y $7,2 \pm 0,3 \mu\text{g/g}$ en la pulpa fresca. Entre el grupo de los carotenoides mayoritarios encontrados en la naranjilla se encuentran el β -caroteno, la luteína y zeaxantina con un porcentaje de 58,4%, 32,2% y 3,2% respectivamente del total de carotenoides. A estos compuestos se les ha asociado beneficios para la salud, como en el tratamiento y prevención de enfermedades cardiovasculares, oftalmológicas y diversas formas de cáncer (Cerón, Higueta, & Cardona, 2010).

Tabla 3. Composición físico, químico y nutricional de la pulpa de la variedad de naranjilla INIAP Quitoense 2009, Datos en base fresca.

ANÁLISIS		VARIEDAD INIAP QUITOENSE 2009
Rendimiento de pulpa (%)		58,86
Consistencia (cm/min)		11,00
Humedad (%)		90,46
pH		3,00
Acidez Titulable (% ác. Cítrico)		2,56
Sólidos Solubles (°Brix)		10,80
Cenizas (%)		0,59
Extracto Etéreo (%)		0,11
Proteína (%)		0,64
Fibra (%)		0,46
Carbohidratos Totales (%)		7,74
Azúcares Totales (%)		4,62
Azúcares Reductores (%)		2,40
Vitamina C (mg/100g)		53,33
Polifenoles Totales (mg/g)		0,81
Carotenoides Totales ($\mu\text{g/g}$)		1,27
MINERALES	Calcio ($\mu\text{g/g}$)	48
	Magnesio ($\mu\text{g/g}$)	124
	Fósforo ($\mu\text{g/g}$)	95
	Potasio ($\mu\text{g/g}$)	3090
	Sodio ($\mu\text{g/g}$)	48
	Hierro ($\mu\text{g/g}$)	1
	Zinc ($\mu\text{g/g}$)	2

Fuente: López Alda, 2011

Ubicación Geográfica.- Es una fruta nativa de los Andes, cultivada y consumida principalmente en Ecuador, Colombia y Centro América (Cerón, Higuita, & Cardona, 2010).

Esta especie se encuentra distribuida en el continente Americano, en los países de: Perú, Honduras, Costa Rica, El Salvador, Panamá, Venezuela, Bolivia, Colombia y la región sur de los Estados Unidos. La naranjilla es originaria de de la región interandina, en el país esta fruta tradicional que se ha cultivado en la región oriental, situandose en las estribaciones externas de la cordillera y llanura amazónica. Los lugares de producción son: Baños, Baeza, valle del río Quijos, Reventador, Puyo, Archidona, Loreto, Lago Agrio, Sucúa, Zamora, Lita, Nanegalito, Mindo, Los Bancos, Chiriboga, Pallatanga principalmente (Jara, 2011).

2.2.1.5. Tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav)



Figura 5. Tomate de Árbol (*Solanum betaceum* Cav)

Generalidades del tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) .- El árbol puede crecer un poco más de 6 metros. Sus frutos en forma de huevo, pesan aproximadamente entre 60 a 170 g. Su pulpa se caracteriza por ser de sabor agridulce y la delgada cáscara por un fuerte sabor amargo. La parte comestible corresponde al 65-85% en peso, con un contenido de humedad 84-88% y 9,0-11,0 °Brix (Cerón, Higuita, & Cardona, 2010).

Usos y Propiedades.- El tomate de árbol es consumido en jugos y postres. Ha sido usado tradicionalmente para reducir los niveles de colesterol en la sangre y

para tratar problemas respiratorios. Algunos autores han reportado que la pulpa de tomate de árbol presenta propiedades para prevenir enfermedades neurodegenerativas y la aterosclerosis, así como se ha detectado actividad antimicrobiana por acción de una proteína (Ordóñez et al., 2006). Mertz et al. (2009) y Vasco et al. (2009) han reportado la actividad antioxidante y los principales compuestos fenólicos del tomate de árbol cultivado en Ecuador (Cerón, Higueta, & Cardona, 2010).

Tabla 4. Caracterización química de cuatro cultivares de Tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.).

Análisis		Anaranjado gigante
Humedad (%)		87,16
Cenizas (%)		0,81
pH		3,76
Acidez titulable (%ac. Cítrico)		1,87
Vitamina C (mg/g)		0,33
Sólidos solubles (°Brix)		12,7
Azúcares totales (%)		8,13
Azúcares reductores (%)		4,69
Polifenoles totales (mg/g)		0,84
Antocianinas (DO544nm)		—
Carotenoides totales (mg/g)		0,23
Azúcares	Glucosa (%)	1,38
	Fructosa (%)	1,64
	Sacarosa (%)	2,21
Ácidos orgánicos	Ácido cítrico (mg/g)	7,22
	Ácido málico (mg/g)	1,12

Fuente: Aviles, 2012

Ubicación Geográfica.- El tomate de árbol es una fruta nativa de la región Andina de Perú y Brasil, y ha sido introducida y cultivada en Nueva Zelanda desde 1930 (Cerón, Higueta, & Cardona, 2010)

Actualmente en el Ecuador, este cultivo ocupa unas 5 000 ha de terreno, convirtiéndose en un frutal típico de la región Interandina, se desarrolla entre 600-3300 msnm, donde la temperatura óptima está entre 14-20°C, el encharcamiento y vientos fuertes afectan directamente. En el Ecuador, el porcentaje de las provincias con mayor producción del tomate de árbol en el año 2009 fueron: Tungurahua (39,2%); Chimborazo (22,2%); Azuay (14,1%); Pichincha (10,0%); Imbabura (4,8%)(Aviles, 2012).

2.3. Fundamentación Filosófica

El paradigma empírico analítico o positivista se desliga de la teología, ya que las investigaciones promueven nuevas ciencias, se crea como metodología lógica de la ciencia que está por encima del idealismo y el materialismo, pretende lograr neutralidad en la filosofía, elimina la subordinación de la realidad a la razón, pretende transformar la ciencia a la filosofía en ciencia de la experiencia y orienta el pensamiento hacia los hechos, exalta la experiencia y orienta el pensamiento hacia los hechos, se debe utilizar como método la observación.

- Observación propiamente dicha.
- La experimentación como la observación del sujeto que ha sugerido modificaciones por el científico.
- La comparación de los hechos, cuando la observación y la experimentación no son posibles se debe transitar de lo conocido a lo desconocido.
- Las hipótesis solo tiene valor cuando se pretende investigar lo que es inaccesible a la observación y al razonamiento positivo por tanto necesita del experimento y la comparación.
- Es necesario seguir el método deductivo para enriquecer el conocimiento racional a expensas del experimental (Geopolítico, 2009)

2.4. Fundamentación legal

En adición se consideró el Título II. Derecho. Capítulo segundo. Derecho del buen vivir. Sección primera. Agua y alimentación.

Para la ejecución de este proyecto de investigación se trabajó considerando los métodos aplicados para componentes bioactivos y capacidad antioxidante por:

Gerogé, S., Brat, P., Alter, P., & Amiot, M. 2005. Rapid determination of polyphenols and vitamina C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (53). 1370-1373 pp.

Dhuique-Mayer, C., Caris-Veyrat, C., Ollitrault, P., Curk, F., & Amiot, M. 2005. Varietal and Interspecific influence on Micronutrient Contents in Citrus from the Mediterranean Area. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53. (6). 214 p.

Sze Ying Leong, Indrawati Oey. 2012. Effects of processing on anthocyanins, carotenoids and vitamin C in summer fruits and vegetables. *Food Chemistry*. 133. 1577–1587 pp.

Rapisarda, P; Fanella, F; Maccarone, E. 2000. Reliability of Analytical Methods for Determining Anthocyanina in Blood Orange Juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48. 2249-2252 pp

Huang Y., Chang Y., Shao Y. 2006. Effects of genotype and treatment on the antioxidant activity of sweet potato in Taiwan, *Food Chemistry*. 98 (3). 529 p.

CITA. 2010. Determinación de la actividad antioxidante. Método ORAC, número AQCITA-M037 con espectrofluorómetro Biotek. Costa Rica. 10 p.

Método reflectométrico de la MERCK, Adaptado en el Laboratorio de Servicios Analíticos e Investigación en Alimentos del Departamento de Nutrición y Calidad INIAP.

Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J., Prior, R. 2002. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50(16). 4437-4444 pp.

2.5. Categorías Fundamentales

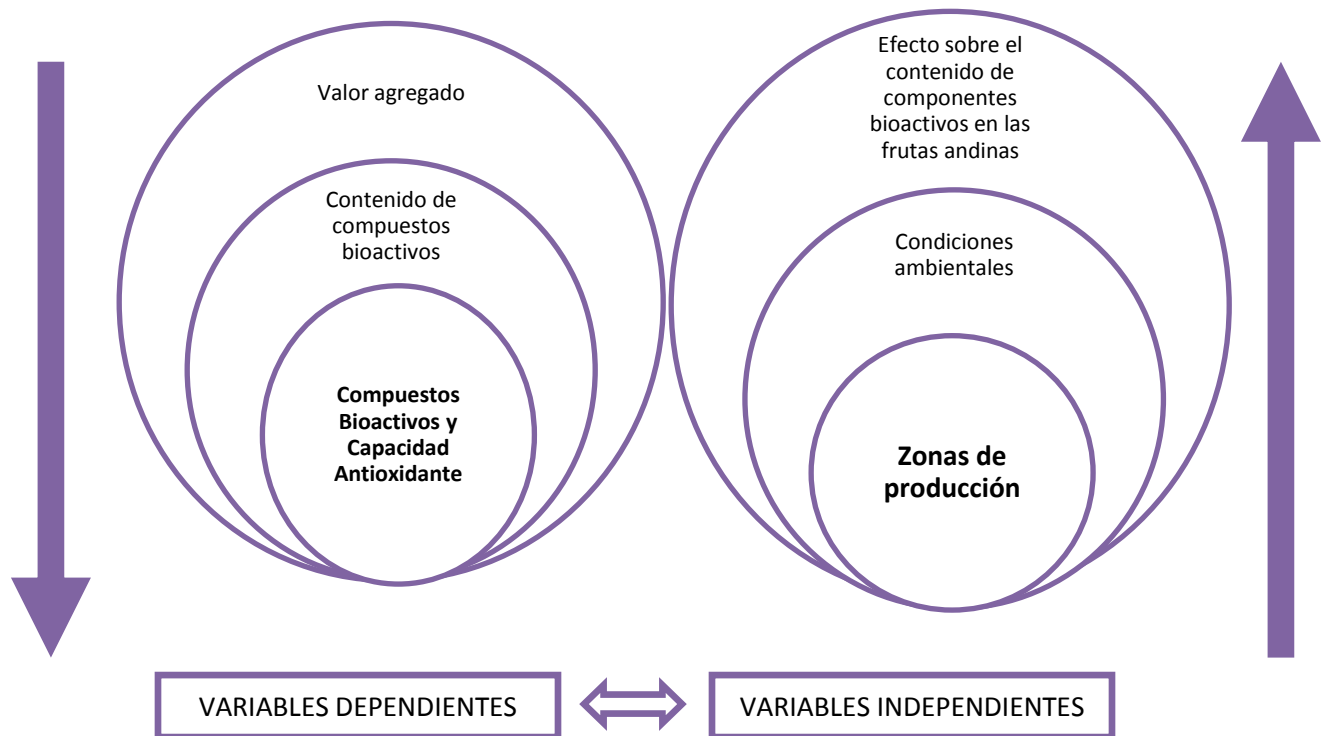


Gráfico 2. Red Lógica de Inclusión
Elaborado por: Cristina Poveda, 2013

2.5.1. Marco Teórico de la Variable Dependiente:

El contenido de los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante dependen de varios factores uno de ellos es la distinta composición química que presentan las fruta estudiadas, así como también de los factores exógenos característicos de sus zonas de producción.

Componentes Bioactivos

Carotenoides totales: Se encuentran ampliamente difundidos en el reino vegetal, en forma de pigmentos rojos, naranjas y amarillos. El más conocido es el β -caroteno, que se encuentra en casi todas las frutas y hortalizas de color anaranjado, así como en las verduras (hojas verdes), constituyendo un precursor de la Vitamina A (Palencia, 2012). Entre los carotenoides presentes en cítricos también están detectados en el plasma humano, α y β - caroteno, licopeno, luteína, criptoxantina. Además α y β - caroteno son quienes contribuyen en gran parte al color vivo en los jugos de naranja. Y es el principal precursor de la provitamina A en jugos cítricos (Dhuique-Mayer *et. al*, 2005).

Se determina por espectrofotometría a una longitud de onda de 450 nm, utilizando una curva de un estándar de caroteno (β -caroteno). Los resultados obtenidos se reportarán en $\mu\text{g}\beta$ -caroteno /g muestra (Dhuique-Mayer, *et al.*, 2005).

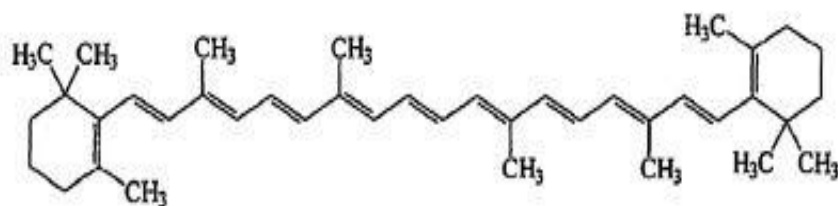


Figura 6. Estructura química del β - caroteno

Polifenoles totales: Los antioxidantes naturales son principalmente compuestos fenólicos que pueden estar presentes en todas las partes de la planta (Leyva, 2009).

Aunque existe una gran variedad de fitoquímicos que se ingieren normalmente en nuestra dieta, los polifenoles se destacan por su amplia disponibilidad en la naturaleza y su elevada capacidad antioxidante, por lo que el potencial beneficio para la salud de los alimentos de origen vegetal está relacionado con su contenido en compuestos (Pérez, 2009).

En este método se involucra la oxidación de los polifenoles con el reactivo Folin & Ciocalteu's Phenol, dando como resultado una reacción colorimétrica con el viraje de amarillo a azul, medido a 760 nm en un espectrofotómetro UV/VIS frente a una curva estándar de ácido gálico. Los datos obtenidos serán reportados en mg ácido gálico/100 g muestra (Gerogé *et al.*, 2005).

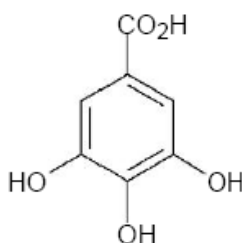


Figura 7. Estructura del ácido gálico

Vitamina C: La vitamina C, es un antioxidante primario o preventivo, ya que reacciona directamente con las especies reactivas desactivándolas. Fuentes de vitamina C en la dieta mediterránea: Los cítricos (naranjas, mandarinas, limones, pomelos), el melón, las cerezas y los vegetales (tomate, pimientos, coliflor, coles y brócoli). Además es un antioxidante soluble en agua. Este es fácilmente oxidable en forma de radical libre, que es realmente estable. La actividad antioxidante del ácido ascórbico es causada por la facilidad de esta pérdida de electrones haciendo esto muy efectivo en sistemas biológicos (Kaur & Kapoor, 2001). La cuantificación de la vitamina C se realizará por método reflectométrico usando

tirillas de calibración de ácido ascórbico, los datos serán reportados en mg / 100 g muestra(Merck, 2003).

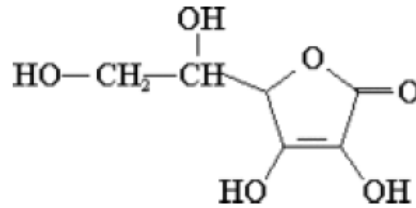


Figura 8. Estructura química del ácido L- ascórbico (Vitamina C)

Antocianinas: La palabra antocianina deriva del griego *anthos* (flor) *kyanos* (azul oscuro). Las antocianinas son las responsables de los colores rojos, azulados o violetas de la mayoría de las frutas y flores. Es el pigmento más importante, después de la clorofila, que es visible al ojo humano. La función más importante de las antocianinas es la percepción visible para la atracción de animales para propósitos de dispersión de semillas(Sze & Oey, 2012).

Sufren transformaciones estructurales con los cambios en el pH. A pH 1,0 las antocianinas existen en una alta coloración de oxonium en su forma flavonoide y se lee por espectrofotometría a una longitud de onda de 510 nm. A pH 4,5 ellas están predominantemente en la forma de carbinol menos coloreado y se lee a 700 nm. En la muestra se realizará las lecturas a los dos pH y a las dos longitudes de onda, el resultado se reportará en mg/100 g (Rapidasarda, Fanella, & Maccarone, 2000; Sze & Oey, 2012; Einbondaet *al.*, 2004).

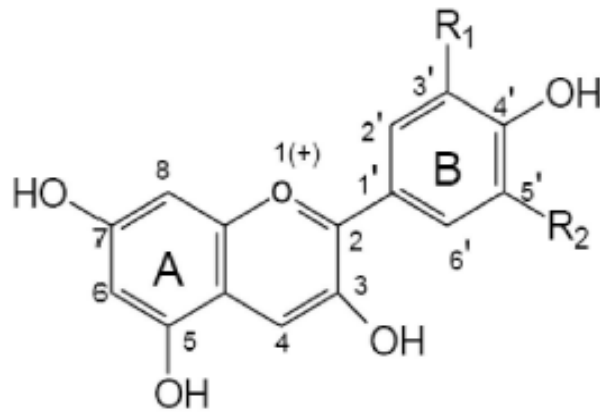


Figura 9. Estructura química de las antocianinas

Flavonoides: Los flavonoides constituyen el grupo de compuestos polifenólicos más diversos y ampliamente distribuidos en las plantas. Su esqueleto básico de difenilpropano ($C_6-C_3-C_6$) consta de dos grupos fenilo (A y B) unidos por un puente de tres carbonos que forma un anillo oxigenado (anillo C). Los flavonoides poseen una elevada afinidad de unión con proteínas y con otras macromoléculas biológicas (hormonas, ácidos nucleicos) y con iones divalentes de metales, así como una alta capacidad para catalizar el transporte de electrones y captar radicales libres (Rivas & García, 2002).

Los flavonoides se cuantifican usando un método espectrofotométrico, se obtiene un extracto de cada muestra usando metanol al 80%, a éste se añade una solución de cloruro de aluminio al 2%. Como reactivo de control se utiliza la quercetina ($C_{15}H_{10}O_7$) (Huang, Chang, & Shao, 2006).

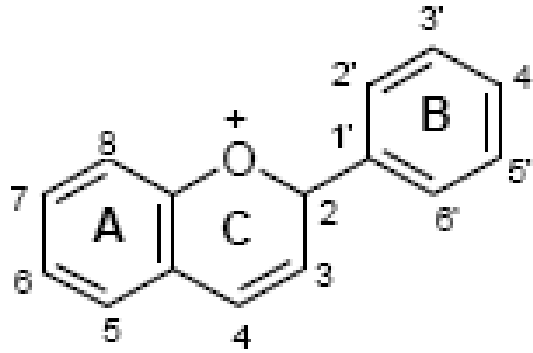


Figura 10. Estructura química del esqueleto básico de los flavonoides.

Capacidad Antioxidante: La capacidad antioxidante de una fruta se mide siguiendo la cinética de una reacción por medio de espectrofotometría de fluorescencia. Este método utiliza una disolución de Trolox como solución patrón de antioxidante y como fuente de radicales libres el AAPH (2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride). Los resultados se reportarán en μmol Trolox Equivalente / g de muestra (Huanget *al.*, 2002; Laverde, 2010).

El método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), en principio, tiene una disolución de fluoresceína que es atacada por un radical libre, lo que causa una disminución de la intensidad de fluorescencia de dicha solución. La muestra con poder antioxidante contrarresta el ataque del radical libre protegiendo así la disolución de fluoresceína. Este método utiliza una disolución de trolox como solución patrón de antioxidante y como fuente de radicales libres utiliza una sustancia llamada AAPH. Conforme aumenta la concentración del antioxidante trolox, la disminución de la intensidad de fluorescencia ocurre a mayor tiempo, lo que demuestra que el trolox cumple con su función, proteger a la fluoresceína. Esto se da porque el trolox se oxida más fácilmente que la fluoresceína, donando el patrón fenólico (Laverde, 2010).

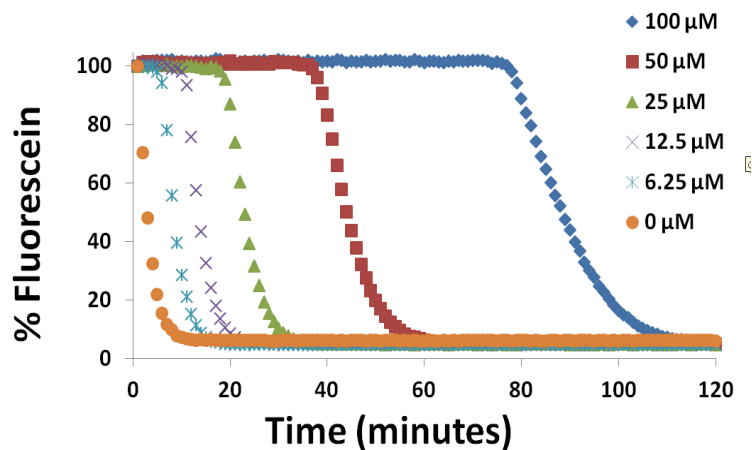


Figura 11. Curva estándar de Trolox

2.5.2. Marco Teórico de la Variable Independiente:

Zonas de producción:

Las condiciones medioambientales como altitud, temperatura, precipitación anual y humedad relativa son características de cada zona de producción y podrían influir sobre las propiedades antioxidantes que presenten las frutas en estudio.

El clima es el principal factor que determina la adaptación de un cultivo a un lugar o región determinado. De esta manera los fenómenos asociados al clima ejercerán una importante influencia en la calidad del producto (Hernández *et al.*, 2007).

Las condiciones geográficas y climáticas de los variados climas de los andes ecuatorianos brindan las condiciones favorables para los cultivos su origen se atribuye a los valles bajos de la cordillera de los andes en Sudamérica, en Ecuador la fruta tiene mejor adaptación por la ubicación geográfica privilegiada, estas ventajas naturales hacen que los productos ecuatorianos tengan mejores condiciones de cultivo y producción de frutas exóticas para el mercado internacional. Diversos estudios han demostrado la importancia de los beneficios de las frutas rojas en la dieta relacionadas con la prevención de enfermedades coronarias, infartos de corazón, cáncer, diabetes y derrames cerebrales entre

otras. Estos beneficios se derivan del elevado contenido en vitaminas y compuestos fenólicos de la mayor parte de estas frutas (Salvatierra, 2011).

2.6. Hipótesis

Ho: Las zonas de producción no influyen sobre el contenido de componentes bioactivos y la capacidad antioxidante en las frutas estudiadas.

Ha: Las zonas de producción influyen sobre el contenido de componentes bioactivos y la capacidad antioxidante en las frutas estudiadas.

2.7. Señalamiento de variables

2.7.1. Variable Dependiente

a) Componentes bioactivos:

- Polifenoles
- Antocianinas
- Carotenoides
- Flavonoides
- Vitamina C

b) Capacidad antioxidante

2.7.2. Variable Independiente

Zonas de producción

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. Enfoque

Esta investigación posee dos enfoques, tanto el paradigma cualitativo que se refiere a lo social, y el paradigma cuantitativo porque tiene relación con las ciencias naturales, debido a que se trata de una investigación donde los factores en estudio son las frutas ecuatorianas y sus diferentes zonas de producción, en donde se observó la influencia de cada una de ellas sobre los componentes bioactivos y la capacidad antioxidante de cada fruta evaluada.

3.2. Modalidad básica de la investigación

El presente proyecto se trabajó bajo tres modalidades de investigación:

Campo. Se tomaron muestras de cinco frutas en cada una de las zonas de producción seleccionadas con tres observaciones, para su respectivo estudio.

Experimental. Se recopiló datos sobre el contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante para lo cual se involucró ensayos y trabajo de laboratorio, para su caracterización química.

Documental - Bibliográfica. Se utilizó para complementar la información de la fundamentación filosófica existente sobre el tema y ensayos realizados en el laboratorio.

3.3. Nivel o tipo de investigación

Para la ejecución de este proyecto se utilizó los siguientes tipos de investigación:

Investigación Exploratoria: Es exploratoria por qué permite realizar nuevos temas que son poco conocidos.

Investigación Cuantitativa: La investigación es cuantitativa por que permite recoger y analizan datos cuantitativos de manera numérica, especialmente en el campo de la Estadística.

Investigación Explicativa: Es explicativa ya que permite la relación entre causa y efecto mediante correlaciones.

3.4.Población y muestra

3.4.1. Fruta y procedencia

Para la esta investigación se utilizócinco frutas ecuatorianas en su estado de madurez comestible. Con el apoyo de los técnicos de la Estación Experimental Central Amazónica y del Programa Nacional de Fruticultura se seleccionaron las zonas de producción (provincias y cantones) y dentro de cada zona de producción se realizarón tres observaciones en campo (muestreo en tres puntos dentro de la misma zona). En cada observación se recolectaron 2 kilogramos de fruta fresca.Cada fruta con su procedencia se detalla a continuación.

Cuadro 1. Zonas de producción para cada fruta en estudio.

Frutas	Zonas de producción	Provincia	Cantón
Tomate de árbol (T)	Z ₁	Tungurahua	Pelileo
	Z ₂	Imbabura	Chaltura
Mora (M)	Z ₃	Tungurahua	Ambato
	Z ₄	Bolívar	Guaranda
Uvilla (U)	Z ₅	Tungurahua	Píllaro
	Z ₆	Pichincha	Mejía
Ciruela (C)	Z ₇	Guayas	Petrillo
	Z ₈	Santa Elena	Juntas del Pacífico

Naranjilla (N)	Z ₉	Napo	Archidona
	Z ₁₀	Sucumbios	El Reventador

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

3.4.2. Lugar y pruebas del ensayo

Se realizó la caracterización física y química de las frutas en los laboratorios del Departamento de Nutrición y Calidad de la Estación Experimental Santa Catalina. Las muestras de las frutas recolectadas se codificaron y registraron en el laboratorio. Una vez en el laboratorio se realizó la selección y eliminación manual de impurezas que vienen junto con la frutas. Se realizó a las muestras tres lavados consecutivos con agua destilada y se secaron al ambiente. Se separó la pulpa de las semillas y cáscara, se usó una licuadora o triturador de alimentos para lograr este fin cuando sea necesario (tomate de árbol, mora, naranjilla y uvilla) o se realizó el proceso manualmente (ciruela). Una vez obtenida la pulpa de cada fruta se procedió inmediatamente a congelarla con nitrógeno líquido y se llevó al proceso de liofilización y posterior molienda; la preparación de la muestra se realiza de acuerdo a los requerimientos específicos para cada uno de los análisis como son antocianinas, polifenoles, carotenoides y capacidad antioxidante. La determinación de vitamina C se realizó en muestra fresca.

Cuadro 2. Frutas a ser estudiadas en la investigación.

Frutas	Nombre científico	Variedad
Tomate de árbol	<i>Solanum betaceum</i> Cav	Anaranjado Gigante
Mora	<i>Rubus glaucus</i> Benth	Andimora 2013
Uvilla	<i>Physalis peruviana</i> L.	Golden Keniana
Ciruela	<i>Spondias purpurea</i>	Roja
Naranjilla	<i>Solanum quitoense</i> Lam.	INIAP Quitoense 2009

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

3.6.Operacionalización de variable

Cuadro 3. Variable Dependiente: Componentes Bioactivos y Capacidad Antioxidante

CONCEPTUALIZACIÓN	CATEGORIA	INDICADORES	ITEMS BÁSICOS	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN
<p>El término antioxidante hace referencia a cualquier sustancia que, estando presente en una concentración más baja comparada con la de un sustrato oxidable, es capaz de retrasar o prevenir la oxidación de dicho sustrato (Leyva, 2009)</p> <p>Los componentes bioactivos se encuentran en abundancia en frutas y vegetales siendo preventivos de ciertas enfermedades como el cáncer (Perez, 2009). Los compuestos bioactivos son componentes que tienen una actividad biológica dentro del organismo..</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Determinaciones químicas. • Cuantificación de compuestos bioactivos y capacidad antioxidantes. 	<p>Cantidad de:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Antocianinas Totales. • Capacidad antioxidante • Carotenoides totales. • Polifenoles Totales. • Vitamina C • Flavonoides 	<p>Para el análisis de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante se utilizó diferentes metodologías.</p> <p>Se realizó la cuantificación del contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante dependiendo de la fruta y la zona de producción.</p> <p>Se relacionó el contenido de compuestos bioactivos con la capacidad antioxidante.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Determinación de antocianinas Totales (método espectrofotométrico) • Determinación de la capacidad antioxidante(método ORAC) • Determinación de carotenoides Totales (método espectrofotométrico) • Determinación de polifenoles totales (método espectrofotométrico) • Determinación de vitamina C (método colorimétrico) • Determinación de flavonoides (método espectrofotométrico)

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

Cuadro 4. Variable Independiente: Zonas de Producción

CONCEPTUALIZACIÓN	CATEGORIA	INDICADORES	ITEMS BÁSICOS	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN
<p>Las zonas de producción son aquellas áreas o territorios delimitados en donde se desarrollan las actividades primarias.</p> <p>Cada zona de producción es característica por sus condiciones medioambientales, las cuales podrían influir en el contenido de compuestos bioactivos y su capacidad antioxidante. Las condiciones medioambientales determinan la adaptación de un cultivo a un lugar o región determinado.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Registro la ubicación geográfica y condiciones medioambientales • Correlaciones entre las zonas de producción y los componentes bioactivos y capacidad antioxidante de cada fruta evaluada 	<ul style="list-style-type: none"> • Altitud • Humedad relativa • Temperatura • Precipitación anual 	<p>Diferenciación entre zonas de producción.</p> <p>Elección de la mejor fruta dependiendo del contenido de compuestos bioactivos y zona de producción.</p> <p>Correlaciones entre las zonas de producción y los componentes bioactivos y capacidad antioxidante de cada fruta evaluada</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Utilización de GPS • Datos bibliográficos • Consultas personales

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

3.7. Recolección de información

3.7.1. Procesamiento y análisis

3.7.1.1. Análisis Estadístico

Se determinó los componentes bioactivos y actividad antioxidantes de cinco frutas, v.g; mora, uvilla, naranjilla, tomate de árbol y ciruelo los resultados fueron analizados utilizando el paquete estadístico STATGRAFICS Plus Versión 4.0 y EXCEL.

3.7.1.2. Análisis de Correlación

Se usó la correlación de Pearson para determinar la relación entre las variables en estudio y los factores climáticos de cada una de las zonas analizadas para cada una de la frutas.

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Análisis de los resultados

Para la determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos en cada una de las frutas en estudio se utilizó los métodos de análisis expuestos en el Anexo A.

El cuadro 5 presenta un resumen de resultados promedio para cada uno de los tratamientos y respuestas experimentales.

Cuadro 5. Contenido total de polifenoles, vitamina C, carotenoides, antocianinas, flavonoides y capacidad antioxidante de cinco frutas andinas (media \pm desviación estándar)

Tratamientos	Polifenoles (mg ac. gálico/100 g muestra liofilizada)	Vitamina C (mgac. ascórbico / 100 g muestra fresca)	Carotenoides (ug/g muestra liofilizada)	Antocianinas (mg/100g muestra liofilizada)	Flavonoides (mg quercetina /100g muestra liofilizada)	Ensayo ORAC
						Capacidad antioxidante (umol Trolox/g muestra liofilizada)
Tomate de árbol Pelileo	343,16 \pm 116,59	27,33 \pm 4,57	61,03 \pm 9,46	ND	35,49 \pm 3,92	73,30 \pm 5,26
Tomate de árbol Chaltura	357,20 \pm 69,60	19,89 \pm 2,08	51,40 \pm 9,31	ND	22,18 \pm 1,23	50,86 \pm 5,05
Mora Ambato	4789,20 \pm 840,76	25,24 \pm 1,75	9,03 \pm 1,72	1694,89 \pm 87,44	125,16 \pm 17,48	527,51 \pm 65,21
Mora Guaranda	5085,58 \pm 460,49	29,13 \pm 4,71	11,07 \pm 0,90	1388,03 \pm 213,21	108,70 \pm 8,72	490,87 \pm 61,63
Uvilla Pillaro	813,80 \pm 164,42	53,00 \pm 2,49	37,31 \pm 11,20	ND	19,53 \pm 1,32	31,13 \pm 4,58
Uvilla Mejía	109,16 \pm 50,47	30,44 \pm 1,50	24,73 \pm 6,98	ND	17,58 \pm 0,93	23,04 \pm 4,58
Ciruela Petrillo	460,03 \pm 99,12	42,67 \pm 1,74	22,63 \pm 4,22	ND	37,38 \pm 2,04	31,70 \pm 4,72
Ciruela de Juntas de Pacífico	414,34 \pm 82,87	36,11 \pm 2,96	23,94 \pm 3,37	ND	38,70 \pm 4,63	24,62 \pm 4,15
Naranja Archidona	816,48 \pm 115,77	31,56 \pm 9,73	47,27 \pm 1,19	ND	36,40 \pm 2,23	124,84 \pm 7,97
Naranja El Reventador	603,12 \pm 73,00	17,56 \pm 0,69	25,75 \pm 3,57	ND	33,17 \pm 1,96	62,96 \pm 4,69

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

* ND: No Detectable

Como se puede observar en el cuadro 5, el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante, varía según el tipo de fruta; los valores encontrados fluctúan entre: 109,16 \pm 50,47 - 5085,58 \pm 460,49 mg ac. gálico/100 g muestra liofilizada para polifenoles totales, 17,56 \pm 0,69 - 53,00 \pm 2,49mgac. ascórbico/ 100

g muestra fresca para vitamina C, $9,03 \pm 1,72$ - $61,03 \pm 9,46$ ug/g muestra liofilizada, $17,58 \pm 0,93$ - $125,16 \pm 17,48$ mg quercetina /100g muestra liofilizada para flavonoides, $23,04 \pm 4,58$ - $527,51 \pm 65,21$ umol Trolox/g muestra liofilizada para capacidad antioxidante y para el caso de antocianinas se encontró solo en mora de la zona 1 y 2 con valores de $1694,89 \pm 87,44$ - $1388,03 \pm 213,21$ mg/100g muestra liofilizada respectivamente.

Según análisis realizados en el CITA, 2010 los valores obtenidos de capacidad antioxidante para mora, tomate de árbol, naranjilla y uvilla son de $455,23$ umol Trolox/g muestra liofilizada, $106,4$ umol Trolox/g muestra liofilizada, $248,66$ umol Trolox/g muestra liofilizada, $35,9$ umol Trolox/g muestra liofilizada respectivamente, los cuales son valores comparativos con los obtenidos en los análisis realizados en este trabajo de investigación.

Para carotenoides, polifenoles y antocianinas los resultados expresados por Mertz, 2009 en muestra liofilizada para polifenoles y en fresco para antocianinas y capacidad antioxidante son valores comparables con los obtenidos en este trabajo para el caso de mora, tomate de árbol y naranjilla los valores reportados por Mertz, 2009 son de 6300 mg/100 g muestra liofilizada para mora; 650 mg/100 g muestra liofilizada para naranjilla y $308-570$ mg/100 g muestra liofilizada para el tomate de árbol.

Vasco y colaboradores, 2008 indica que los valores más altos en contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante le pertenece a la mora, lo cual se confirma con los análisis realizados, seguidamente esta la naranjilla, ciruela, uvilla y tomate de árbol con valores similares en el porcentaje de contenido de dichos compuestos.

De igual manera se ha identificado que las zonas de producción ejercen influencias sobre la composición química de las frutas a pesar de que tienen el mismo manejo agronómico y son de la misma variedad, pero como se observa en los cuadros siguientes la ubicación geográfica tiene una relación directa con el

contenido de los compuesto bioactivos y la capacidad antioxidante existente en cada una de la frutas lo cual se explica a continuación.

4.1.1 Determinación de capacidad antioxidante y compuestos bioactivos en mora.

La mora perteneciente a las zonas de producción de Ambato y Guaranda contiene un alto contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante como se observa en el cuadro 6, existiendo poca diferencia entre las zonas de producción. En cuanto al contenido de capacidad antioxidante, antocianinas, flavonoides tenemos un porcentaje alto en la zona de Ambato y para polifenoles, vitamina C y carotenoides en la zona de Guaranda el contenido es mayor. Estas diferencias se deben a la ubicación geográfica de la zona en la cual se encuentra ya que Ambato tiene una altitud mayor a la de Guaranda, sin embargo en el contenido de los componentes bioactivos y la capacidad antioxidante no existe una gran diferencia, ya que los factores climáticos como la temperatura, humedad relativa y precipitación son similares para las dos zonas de producción.

Cuadro 6. Contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en muestras de mora provenientes de la zona de producción de Ambato, provincia de Tungurahua y Guaranda, provincia de Bolívar.

ANÁLISIS	ZONAS DE PRODUCCIÓN	
	Ambato	Guaranda
Polifenoles (mg ac. gálico/100 g muestra liofilizada)	4789,20 ± 840,76	5085,58 ± 460,49
Vitamina C (mg ac. ascórbico/ 100 g muestra fresca)	25,24 ± 1,75	29,13 ± 4,71
Carotenoides (ug/g muestra liofilizada)	9,03 ± 1,72	11,07 ± 0,90
Antocianinas (mg/100g muestra liofilizada)	1694,89 ± 87,44	1388,03 ± 213,21
Flavonoides (mg quercetina /100g muestra liofilizada)	125,16 ± 17,48	108,70 ± 8,72
Capacidad antioxidante (umol Trolox/g muestra liofilizada)	527,51 ± 65,21	490,87 ± 61,63

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

4.1.2. Determinación de capacidad antioxidante y compuestos bioactivos en uvilla.

Los componentes bioactivos y la capacidad antioxidante encontrada en la uvilla perteneciente a las zonas de producción de Píllaro y Mejía se encuentra una diferencia significativa entre las zonas de producción como se puede observar en el cuadro 7, la uvilla perteneciente a la zona de Píllaro es aquella que contiene el mayor porcentaje de componentes bioactivos y capacidad antioxidante en relación a la zona de Mejía, no siendo detectable para ambos casos antocianinas debido a que este componente no es predominante en frutas de color amarillo o amarillo-verdoso. Estas diferencias entre zonas pueden deberse a los factores climáticos de cada zona ya que existe diferencias entre ellas.

Cuadro 7. Contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en muestras de uvilla provenientes de la zona de producción de Píllaro, provincia de Tungurahua y Mejía, provincia de Pichincha.

ANÁLISIS	ZONAS DE PRODUCCIÓN	
	Píllaro	Mejía
Polifenoles (mg ac. gálico/100 g muestra liofilizada)	813,80 ± 164,42	109,16 ± 50,47
Vitamina C (mg ac. ascórbico/ 100 g muestra fresca)	53,00 ± 2,49	30,44 ± 1,50
Carotenoides (ug/g muestra liofilizada)	37,31 ± 11,20	24,73 ± 6,98
Antocianinas (mg/100g muestra liofilizada)	ND	ND
Flavonoides (mg quercetina /100g muestra liofilizada)	19,53 ± 1,32	17,58 ± 0,93
Capacidad antioxidante (umol Trolox/g muestra liofilizada)	31,13 ± 4,58	23,04 ± 4,58

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

4.1.3. Determinación de capacidad antioxidante y compuestos bioactivos en naranjilla.

La naranjilla perteneciente a la zonas de producción de Archidona, provincia de Napo y El Reventador, provincia de Sucumbíos, se ha encontrado que los frutos pertenecientes a Archidona tienen un contenido de componentes bioactivos y capacidad antioxidante mayor a los encontrados en los frutos de la zona del Reventador, de igual manera esta diferencia se debe a su ubicación geográfica lo cual hace que exista diferencias entre ellas.

Cuadro 8. Contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en muestras de naranjilla provenientes de la zona de producción de Archidona provincia de Napo y El Reventador, provincia de Sucumbíos.

ANÁLISIS	ZONA DE PRODUCCIÓN	
	Archidona	El Reventador
Polifenoles (mg ac. gálico/100 g muestra liofilizada)	816,48 ± 115,77	603,12 ± 73,00
Vitamina C (mg ac. ascórbico/ 100 g muestra fresca)	31,56 ± 9,73	17,56 ± 0,69
Carotenoides (ug/g muestra liofilizada)	47,27 ± 1,19	25,75 ± 3,57
Antocianinas (mg/100g muestra liofilizada)	ND	ND
Flavonoides (mg quercetina /100g muestra liofilizada)	36,40 ± 2,23	33,17 ± 1,96
Capacidad antioxidante (umol Trolox/g muestra liofilizada)	124,84 ± 7,97	62,96 ± 4,69

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

4.1.4. Determinación de capacidad antioxidante y compuestos bioactivos en tomate de árbol.

Las muestras de tomate de árbol provenientes de las zonas de Pelileo, provincia de Tungurahua y Chaltura, provincia de Imbabura tienen un contenido de capacidad antioxidante y componentes bioactivos similares entre las dos zonas de producción, sin embargo los frutos provenientes de Pelileo muestran un mayor

contenido con relación a los frutos de la otra zona estudiada. Los factores climáticos son similares para las dos zonas, lo cual quiere decir que son semejantes entre ellas.

Cuadro 9. Contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en muestras de tomate de árbol provenientes de la zona de producción de Pelileo provincia de Tungurahua y Chaltura, provincia de Imbabura.

ANÁLISIS	ZONA DE PRODUCCIÓN	
	Pelileo	Chaltura
Polifenoles (mg ac. gálico/100 g muestra liofilizada)	343,16 ± 116,59	357,20 ± 69,60
Vitamina C (mg ac. ascórbico/ 100 g muestra fresca)	27,33 ± 4,57	19,89 ± 2,08
Carotenoides (ug/g muestra liofilizada)	61,03 ± 9,46	51,40 ± 9,31
Antocianinas (mg/100g muestra liofilizada)	ND	ND
Flavonoides (mg quercetina /100g muestra liofilizada)	35,49 ± 3,92	22,18 ± 1,23
Capacidad antioxidante (umol Trolox/g muestra liofilizada)	73,30 ± 5,26	50,86 ± 5,05

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

4.1.5. Determinación de capacidad antioxidante y compuestos bioactivos en ciruela.

Los análisis realizados en muestras de ciruela provenientes de las zonas de producción de Petrillo, provincia de Guayas y Juntas del Pacífico, provincia de Santa Elena muestran valores similares, debido a que tienen condiciones o factores climáticos parecidos en las dos zonas. Siendo la mejor con un contenido mayor de estos compuestos la zona de Petrillo. Las antocianinas no han sido detectadas en esta fruta debido a la coloración que presenta esta fruta.

Cuadro 10. Contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en muestras de ciruela provenientes de la zona de producción de Petrillo, provincia de Guayas y Juntas de Pacífico, provincia de Santa Elena.

ANÁLISIS	ZONA DE PRODUCCIÓN	
	Petrillo	Juntas del Pacífico
Polifenoles (mg ac. gálico/100 g muestra liofilizada)	460,03 ± 99,12	414,34 ± 82,87
Vitamina C (mg ac. ascórbico/ 100 g muestra fresca)	42,67 ± 1,74	36,11 ± 2,96
Carotenoides (ug/g muestra liofilizada)	22,63 ± 4,22	23,94 ± 3,37
Antocianinas (mg/100g muestra liofilizada)	ND	ND
Flavonoides (mg quercetina /100g muestra liofilizada)	37,38 ± 2,04	38,70 ± 4,63
Capacidad antioxidante (umol Trolox/g muestra liofilizada)	31,70 ± 4,72	24,62 ± 4,15

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

4.1.6. Análisis de Correlación

El índice numérico más común usado para medir una correlación es el “coeficiente de Pearson”, que proporciona una medida numérica de la correlación entre dos variables.

En el presente estudio se utilizó este coeficiente con el fin de determinar si existen relaciones directas o indirectas entre los componentes bioactivos y la capacidad antioxidante como un primer acercamiento para evaluar sus efectos biológicos.

En la tabla 5 se presenta el grado de asociación entre los componentes bioactivos y capacidad antioxidante encontrados en el estudio para la mora.

Tabla 5. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos y la capacidad antioxidante para mora (*Rubus glaucus* Benth).

	ORAC	Antocianinas	Carotenoides	Flavonoides	Polifenoles	Vitamina C
ORAC		0,1615	-0,2826	0,0943	0,0702	-0,2852
		(18)	(18)	(18)	(18)	(18)
		0,5220	0,2559	0,7097	0,7820	0,2512
Antocianinas	0,1615		-0,4969	0,7023	-0,2900	-0,0372
	(18)		(18)	(18)	(18)	(18)
	0,5220		0,0359	0,0012	0,2430	0,8834
Carotenoides	-0,2826	-0,4969		-0,1860	0,5509	0,4273
	(18)	(18)		(18)	(18)	(18)
	0,2559	0,0359		0,4599	0,0178	0,0770
Flavonoides	0,0943	0,7023	-0,1860		-0,1082	0,0046
	(18)	(18)	(18)		(18)	(18)
	0,7097	0,0012	0,4599		0,6691	0,9855
Polifenoles	0,0702	-0,2900	0,5509	-0,1082		0,0937
	(18)	(18)	(18)	(18)		(18)
	0,7820	0,2430	0,0178	0,6691		0,7116
Vitamina C	-0,2852	-0,0372	0,4273	0,0046	0,0937	
	(18)	(18)	(18)	(18)	(18)	
	0,2512	0,8834	0,0770	0,9855	0,7116	

El rango de estos coeficientes de correlación va de -1 a +1, y miden la fuerza de la relación lineal entre las variables. El tercer número en cada bloque de la tabla es un valor-P que prueba la significancia estadística de las correlaciones estimadas. Valores-P abajo de 0,05 indican correlaciones significativamente diferentes de cero, con un nivel de confianza del 95,0%.

La correlación entre Antocianinas y Flavonoides dio un r (coeficiente de correlación)= 0.7097, que es directamente proporcional lo que concuerda con investigaciones realizadas por investigadores franceses usando una serie de ensayos de antioxidantes, incluyendo DPPH, ABTS, ORAC, SOD, FRAP sobre extractos de 30 plantas encontraron una relación significativa entre la capacidad antioxidante y el contenido fenólico total; lo que indica que son los compuestos fenólicos los principales contribuyentes de las propiedades antioxidantes de estas plantas; como se puede observar en la figura 12.

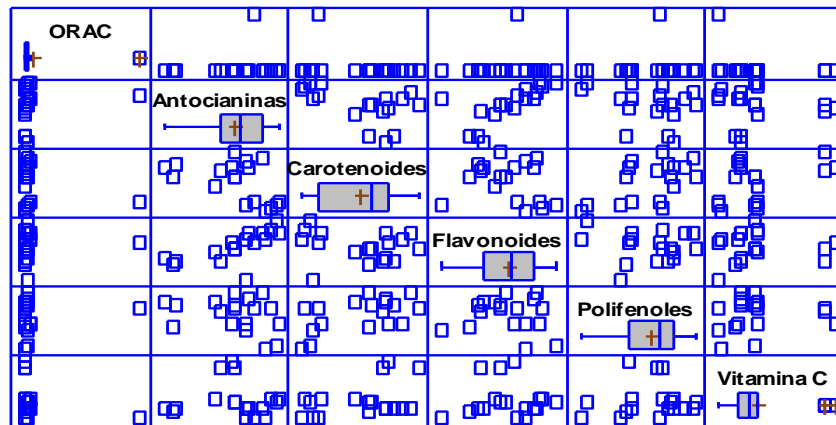


Figura 12. Correlación entre compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en mora.

En la tabla 6 se presenta el grado de asociación entre los componentes bioactivos y capacidad antioxidante encontrados en el estudio para la uvilla.

Tabla 6. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos y la capacidad antioxidante para uvilla (*Physalis peruviana* L.).

	ORAC	Carotenoides	Flavonoides	Polifenoles	Vitamina C
ORAC		0,6524 (18) 0,0033	0,8068 (18) 0,0001	0,7465 (18) 0,0004	0,7104 (18) 0,0010
Carotenoides	0,6524 (18) 0,0033		0,7021 (18) 0,0012	0,6045 (18) 0,0079	0,4948 (18) 0,0368
Flavonoides	0,8068 (18) 0,0001	0,7021 (18) 0,0012		0,9024 (18) 0,0000	0,8465 (18) 0,0000
Polifenoles	0,7465 (18) 0,0004	0,6045 (18) 0,0079	0,9024 (18) 0,0000		0,9624 (18) 0,0000
Vitamina C	0,7104 (18) 0,0010	0,4948 (18) 0,0368	0,8465 (18) 0,0000	0,9624 (18) 0,0000	

Para este caso se encontraron que si existe correlación positiva entre todos los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante, por tanto, la uvilla podría ser fuente rica de antioxidantes naturales en incorporaciones de alimentos funcionales.

En la figura 13 se puede observar claramente la correlación que existe entre cada uno de los pares.

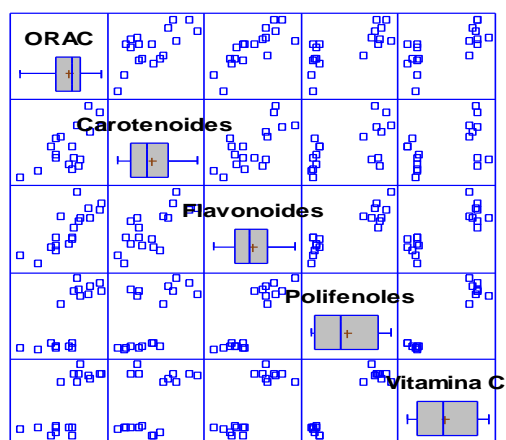


Figura 13. Correlación entre compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en uvilla.

En la tabla 7 se presenta el grado de asociación entre los componentes bioactivos y capacidad antioxidante encontrados en el estudio para la naranjilla.

Tabla 7. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos y la capacidad antioxidante para naranjilla(*Solanum Quitoense* Lam.).

	ORAC	Carotenoides	Flavonoides	Polifenoles	Vitamina C
ORAC		0,9698 (18)	0,7159 (18)	0,8025 (18)	0,7448 (18)
		0,0000	0,0008	0,0001	0,0004
Carotenoides	0,9698 (18)		0,7141 (18)	0,8211 (18)	0,7434 (18)
	0,0000		0,0009	0,0000	0,0004
Flavonoides	0,7159 (18)	0,7141 (18)		0,8088 (18)	0,5710 (18)
	0,0008	0,0009		0,0000	0,0133

Polifenoles	0,8025	0,8211	0,8088		0,6602
	(18)	(18)	(18)		(18)
	0,0001	0,0000	0,0000		0,0029
Vitamina C	0,7448	0,7434	0,5710	0,6602	
	(18)	(18)	(18)	(18)	
	0,0004	0,0004	0,0133	0,0029	

Los componentes bioactivos y la capacidad antioxidante de la naranjilla presentan coeficientes de correlación superiores al 50 %. Sobresaliendo el par ORAC y Carotenoides con un coeficiente de correlación positiva muy alta de $r=0.9698$. De igual manera que en el caso de la uvilla, la naranjilla tiene una buena relación entre las variables en estudio como se puede observar en la figura 14.

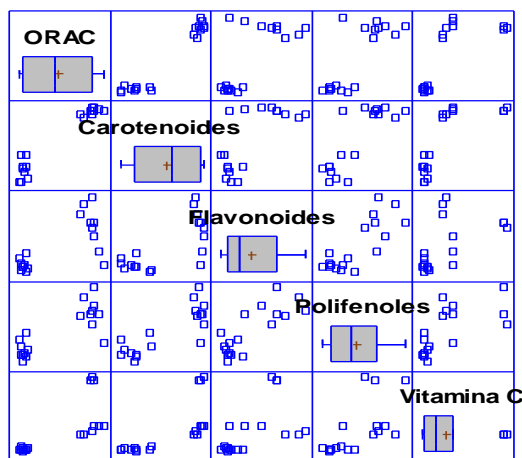


Figura 14. Correlación entre compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en naranjilla.

En la tabla 8 se presenta el grado de asociación entre los componentes bioactivos y capacidad antioxidante encontrados en el estudio para tomate de árbol.

Tabla 8. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos y la capacidad antioxidante para tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav).

	ORAC	Carotenoides	Flavonoides	Polifenoles	Vitamina C
ORAC		0,5937	0,8784	0,0559	0,6513
		(18)	(18)	(18)	(18)

		0,0094	0,0000	0,8257	0,0034
Carotenoides	0,5937		0,4605	0,1108	0,0288
	(18)		(18)	(18)	(18)
	0,0094		0,0545	0,6615	0,9097
Flavonoides	0,8784	0,4605		-0,0825	0,7401
	(18)	(18)		(18)	(18)
	0,0000	0,0545		0,7449	0,0004
Polifenoles	0,0559	0,1108	-0,0825		-0,0896
	(18)	(18)	(18)		(18)
	0,8257	0,6615	0,7449		0,7236
Vitamina C	0,6513	0,0288	0,7401	-0,0896	
	(18)	(18)	(18)	(18)	
	0,0034	0,9097	0,0004	0,7236	

La relación entre Flavonoides y ORAC presenta el coeficiente de correlación más alto en relación al resto de pares con un valor de $r = 0.8784$.

En la figura 15 se puede observar las diferentes correlaciones entre los componentes bioactivos y la capacidad antioxidante.

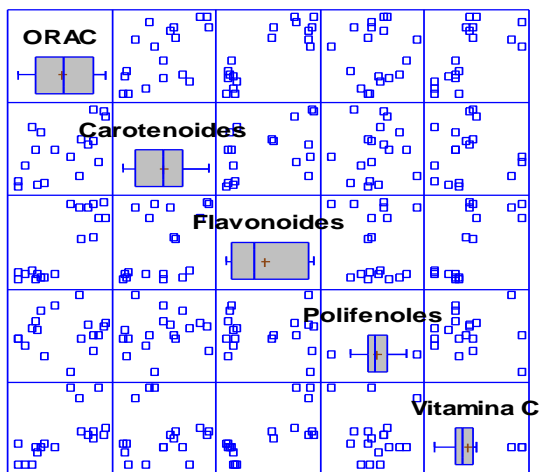


Figura 15. Correlación entre compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en tomate de árbol.

En la tabla 9 se presenta el grado de asociación entre los componentes bioactivos y capacidad antioxidante encontrados en el estudio para ciruela

Tabla 9. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos y la capacidad antioxidante para ciruela(*Spondias purpurea*).

	ORAC	Carotenoides	Flavonoides	Polifenoles	Vitamina C
ORAC		-0,1109 (18)	-0,2467 (18)	0,2433 (18)	0,6480 (18)
		0,6614	0,3237	0,3305	0,0036
Carotenoides	-0,1109 (18)		0,0536 (18)	0,3876 (18)	0,0112 (18)
	0,6614		0,8328	0,1120	0,9647
Flavonoides	-0,2467 (18)	0,0536 (18)		0,0743 (18)	-0,3044 (18)
	0,3237	0,8328		0,7695	0,2194
Polifenoles	0,2433 (18)	0,3876 (18)	0,0743 (18)		0,4323 (18)
	0,3305	0,1120	0,7695		0,0732
Vitamina C	0,6480 (18)	0,0112 (18)	-0,3044 (18)	0,4323 (18)	
	0,0036	0,9647	0,2194	0,0732	

La correlación que existe entre ORAC y Vitamina C es moderada con un coeficiente de correlación $r = 0.6480$. Lo que haría suponer la existencia de una inhibición influenciada por la acción de otros componentes no evaluados en este experimento.

La figura 16 indica las asociaciones existentes entre cada uno de los componentes bioactivos y la capacidad antioxidante.

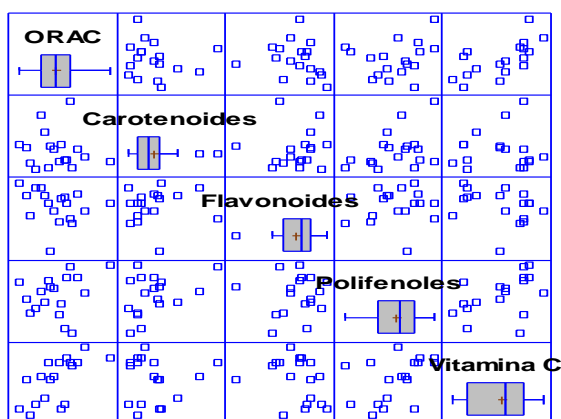


Figura 16. Correlación entre compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en ciruela.

Relación entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y la zona de producción

Los cuadros de correlaciones que se presentan a continuación corresponden a la relación entre los compuestos bioactivos - capacidad antioxidante - zonas de producción (factores ambientales). La mayoría de correlaciones determina que el factor climático temperatura, altitud, precipitación anual y humedad relativa tiene una relación directa con el contenido de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante dependiendo de la fruta y el compuesto. Como se observa a continuación en los cuadros del 11 al 20 se ha marcado con color verde la mejor correlación entre los factores ambientales y los componentes bioactivos y capacidad antioxidante.

Cuadro 11. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y factores ambientales para mora de Ambato (Z1)

R	Altitud	Temperatura	Humedad Relativa	Precipitación Anual
Capacidad antioxidante (ORAC) (umol Trolox/g muestra liofilizada)	0,561	-0,462	0,727	0,831
Antocianinas (mg/100g muestra liofilizada)	-0,875	0,925	-0,750	-0,628
Carotenoides (ug/g muestra liofilizada)	0,912	-0,859	0,979	0,999
Flavonoides (mg quercetina/100g muestra liofilizada)	-0,157	0,269	0,061	0,227
Polifenoles (mg ac. Gálico/100 g muestra liofilizada)	0,864	-0,801	0,953	0,990
Vitamina C (mg ac. ascórbico / 100 g muestra fresca)	-0,359	0,464	-0,148	0,019

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

Cuadro 12. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y factores ambientales para mora de Guaranda (Z2).

R	Altitud	Temperatura	Humedad Relativa	Precipitación Anual
Capacidad antioxidante (ORAC) (umolTrolox/g muestra liofilizada)	0,974	-0,731	-0,298	-0,426
Antocianinas (mg/100g muestra liofilizada)	0,303	-0,739	0,928	-0,936
Carotenoides (ug/g muestra liofilizada)	-0,966	0,708	0,330	0,395
Flavonoides (mg quercetina/100g muestra liofilizada)	0,435	-0,827	0,865	-0,977
Polifenoles (mg ac. Gálico/100 g muestra liofilizada)	0,973	-0,726	-0,305	-0,419
Vitamina C (mg ac. ascórbico / 100 g muestra fresca)	-0,503	0,003	0,900	-0,368

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

Cuadro 13. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y factores ambientales para uvilla de Píllaro (Z1).

R	Altitud	Temperatura	Humedad Relativa	Precipitación Anual
Capacidad antioxidante (ORAC) (umolTrolox/g muestra liofilizada)	-0,967	-0,885	-0,262	0,205
Carotenoides (ug/g muestra liofilizada)	-0,506	-0,956	0,494	0,835
Flavonoides (mg quercetina/100g muestra liofilizada)	-0,272	-0,851	0,697	0,947
Polifenoles (mg ac. Gálico/100 g muestra liofilizada)	-0,375	-0,903	0,615	0,906
Vitamina C (mg ac. ascórbico / 100 g muestra fresca)	-0,394	-0,911	0,599	0,897

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

Cuadro 14. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y factores ambientales para uvilla de Mejía (Z2).

R	Altitud	Temperatura	Humedad Relativa	Precipitación Anual
Capacidad antioxidante (ORAC) (umolTrolox/g muestra liofilizada)	0,117	0,410	0,886	0,644
Carotenoides (ug/g muestra liofilizada)	0,982	0,879	0,395	-0,811
Flavonoides (mg quercetina/100g muestra liofilizada)	0,569	0,790	1,000	0,211
Polifenoles (mg ac. Gálico/100 g muestra liofilizada)	0,987	0,990	0,690	-0,557
Vitamina C (mg ac. ascórbico / 100 g muestra fresca)	0,993	0,982	0,655	-0,596

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

Cuadro 15. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y factores ambientales para naranjilla de Archidona (Z1).

R	Altitud	Temperatura	Humedad Relativa	Precipitación Anual
Capacidad antioxidante (ORAC) (umolTrolox/g muestra liofilizada)	-0,507	0,715	0,493	0,148
Carotenoides (ug/g muestra liofilizada)	-0,191	0,907	0,755	0,469
Flavonoides (mg quercetina/100g muestra liofilizada)	0,590	-0,642	-0,404	-0,049
Polifenoles (mg ac. gálico/100 g muestra liofilizada)	0,848	-0,310	-0,035	0,327
Vitamina C (mg ac. ascórbico / 100 g muestra fresca)	0,798	0,777	0,921	0,999

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

Cuadro 16. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y factores ambientales para naranjilla del Reventador (Z2).

R	Altitud	Temperatura	Humedad Relativa	Precipitación Anual
Capacidad antioxidante (ORAC) (umolTrolox/g muestra liofilizada)	-0,697	-0,460	-0,390	-0,368
Carotenoides (ug/g muestra liofilizada)	-0,900	-0,988	-0,997	-0,998
Flavonoides (mg quercetina/100g muestra liofilizada)	0,889	0,984	0,995	0,997
Polifenoles (mg ac. gálico/100 g muestra liofilizada)	0,216	-0,076	-0,152	-0,176
Vitamina C (mg ac. ascórbico / 100 g muestra fresca)	-0,992	-0,986	-0,970	-0,964

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

Cuadro 17. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y factores ambientales para tomate de árbol de Pelileo (Z1).

R	Altitud	Temperatura	Humedad Relativa	Precipitación Anual
Capacidad antioxidante (ORAC) (umolTrolox/g muestra liofilizada)	0,066	-0,253	0,711	-0,176
Carotenoides (ug/g muestra liofilizada)	0,277	-0,454	0,545	0,038
Flavonoides (mg quercetina/100g muestra liofilizada)	-0,921	0,831	0,897	-0,988
Polifenoles (mg ac. gálico/100 g muestra liofilizada)	-0,655	0,500	1,000	-0,817
Vitamina C (mg ac. ascórbico / 100 g muestra fresca)	-0,797	0,896	0,064	-0,628

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

Cuadro 18. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y factores ambientales para tomate de árbol de Chaltura (Z2).

R	Altitud	Temperatura	Humedad Relativa	Precipitación Anual
Capacidad antioxidante (ORAC) (umolTrolox/g muestra liofilizada)	-0,340	-0,512	-0,488	0,644
Carotenoides (ug/g muestra liofilizada)	0,999	0,990	-0,615	0,455
Flavonoides (mg quercetina/100g muestra liofilizada)	0,964	0,997	-0,432	0,253
Polifenoles (mg ac. gálico/100 g muestra liofilizada)	0,053	-0,137	-0,789	0,891
Vitamina C (mg ac. ascórbico / 100 g muestra fresca)	-0,881	-0,955	0,220	-0,032

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

Cuadro 19. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y factores ambientales para ciruela de Petrillo (Z1).

R	Altitud	Temperatura	Humedad Relativa	Precipitación Anual
Capacidad antioxidante (ORAC) (umolTrolox/g muestra liofilizada)	-0,152	0,442	-0,967	-0,902
Carotenoides (ug/g muestra liofilizada)	-0,803	0,587	0,228	0,040
Flavonoides (mg quercetina/100g muestra liofilizada)	0,964	-0,840	0,140	0,325
Polifenoles (mg ac. gálico/100 g muestra liofilizada)	0,852	-0,656	-0,141	0,048
Vitamina C (mg ac. ascórbico / 100 g muestra fresca)	-0,217	0,500	-0,982	-0,929

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

Cuadro 20. Correlación de Pearson entre los componentes bioactivos, la capacidad antioxidante y factores ambientales para ciruela de Juntas del Pacífico (Z2).

R	Altitud	Temperatura	Humedad Relativa	Precipitación Anual
Capacidad antioxidante (ORAC) (umolTrolox/g muestra liofilizada)	0,004	-0,889	-0,416	0,095
Carotenoides (ug/g muestra liofilizada)	-0,900	-0,020	-0,634	-0,936
Flavonoides (mg quercetina/100g muestra liofilizada)	0,824	-0,130	0,511	0,872
Polifenoles (mg ac. gálico/100 g muestra liofilizada)	-0,541	0,504	-0,138	-0,615
Vitamina C (mg ac. ascórbico / 100 g muestra fresca)	-0,999	-0,483	-0,921	-0,992

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

4.2. Interpretación de resultados

Para determinar la influencia de las zonas de producción sobre los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante se realizó un diseño jerárquico con variables de efecto aleatorio.

Planteamiento de Hipótesis:

Hipótesis Nula: $H_0: \sigma^2_{\tau} = 0$ y $H_0: \sigma^2_{\beta} = 0$ No hay diferencia significativa entre zonas de producción y observaciones

Hipótesis Alternativa: $H_0: \sigma^2_{\tau} \neq 0$ y $H_0: \sigma^2_{\beta} \neq 0$ Si hay diferencia significativa entre zonas de producción y observaciones

4.2.1. Análisis estadístico para mora

4.2.1.1. Análisis estadístico de vitamina C (mg ac. ascórbico / 100 g muestra fresca)

El resumen del Análisis de Varianza(ANOVA) del contenido de vitamina C para los tratamientos, se muestra en la Tabla 10. La hipótesis nula se rechaza y se acepta la hipótesis alternativas que quiere decir, que existe variabilidad entre las zonas de producción con 13,29 % y la mayor variabilidad se presenta en las observaciones de 86,02 %.

Tabla 10. Análisis de Varianza para la Variable Vitamina C

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	247,185	17			
Zonas	65,7804	1	65,7804	2,30993	13,29
Observaciones	79,964	4	44,9911	14,957	86,02
ERROR	1,44	12	0,12	0,12	0,69

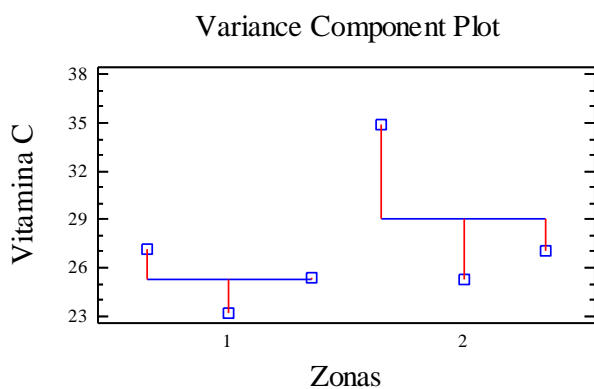


Gráfico N° 3. Componente de varianza para Vitamina C

4.2.1.2. Análisis estadístico de Polifenoles Totales (mg ac. gálico/100 g muestra liofilizada).

El resumen del Análisis de Varianza(ANOVA) del contenido de polifenoles para los tratamientos, se muestra en la Tabla 11.

Tabla 11. Análisis de Varianza para la Variable Polifenoles

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED) 6,97762E6 17					
Zonas	881912,0	1	881912,0	38984,8	8,93
Observaciones	2,12419E6	4	531049,0	66696,2	15,27
ERROR	3,97152E6	12	330960,0	330960,0	75,80

La mayor variabilidad de polifenoles proviene de las observaciones 15.27%, esto quiere decir, que este compuesto bioactivo es aquel que se encuentra diferente en cada observación. El gráfico 4 nos permite observar el anidamiento.

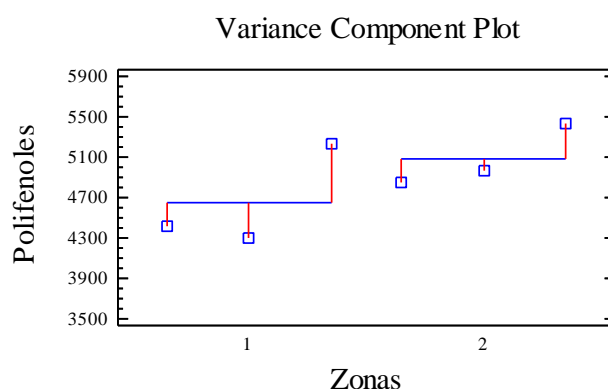


Gráfico N° 4. Componente de varianza para Polifenoles Totales

4.2.1.3. Análisis estadístico de Flavonoides Totales (mg quercetina /100 g muestra liofilizada).

El análisis estadístico (ANOVA) realizados a la variable respuesta Flavonoides se presenta en la Tabla 12.

Tabla 12. Análisis de Varianza para la Variable Flavonoides

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	4066,07	17			
Zonas	1219,03	1	1219,03	97,2262	33,11
Observaciones	1375,97	4	343,992	73,8009	25,14
ERROR	1471,07	12	122,589	122,589	41,75

La mayor variabilidad proviene de las zonas de producción 33,11%, el gráfico 5 corrobora los resultados, observándose claramente el anidamiento.

Esto quiere decir que, existe una diferencia del 33,11% entre las zonas de producción con respecto al contenido de este compuesto bioactivo, debido al análisis en laboratorio y a la situación geográfica en la que se encuentra situada las frutas en estudio. De igual manera la hipótesis nula se rechaza ya que existe una diferencia significativa entre zonas de producción y las observaciones estudiadas en cada una de las zonas.

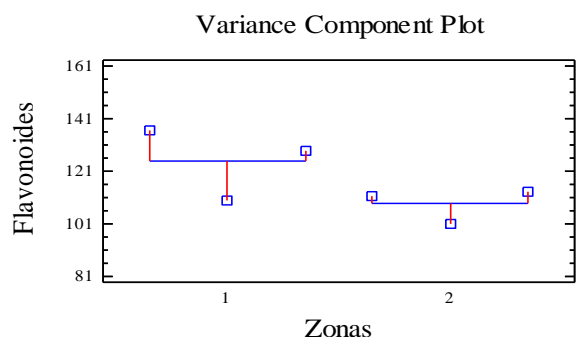


Gráfico N° 5. Componente de varianza para Flavonoides Totales

4.2.1.4. Análisis estadístico de Capacidad Antioxidante (ORAC) (umol Trolox /g muestra liofilizada)

Para la variable respuesta capacidad antioxidante el análisis estadístico (ANOVA) no encuentra variabilidad debida a las zonas ni a las observaciones (Tabla 13, gráfico 6).

Tabla 13. Análisis de Varianza para la Variable ORAC

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	1,94651E7	17			
Zonas	1,37476E6	1	1,37476E6	26334,9	2,26
Observaciones	4,43729E6	4	1,10932E6	0,0	0,00
ERROR	1,3653E7	12	1,13775E6	1,13775E6	97,74

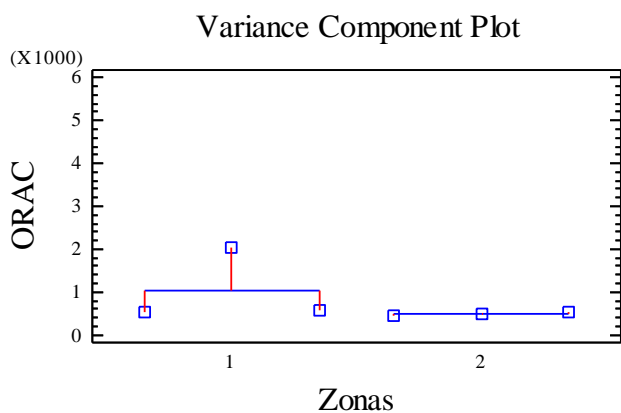


Gráfico N° 6. Componente de varianza para capacidad antioxidante (ORAC)

4.2.1.5. Análisis estadístico de Antocianinas para la mora de las dos zonas de producción.

Para el caso de las antocianinas el análisis estadístico ANOVA, establece una gran variabilidad de esta respuesta experimental debida a las zonas de producción

con un 64,82% y para el caso de las observaciones con un 34,75%, el output de Statgraphics corrobora los resultados obtenidos y nos permite además observar el anidamiento de manera gráfica.

Tabla 14. Análisis de Varianza para la Variable Antocianinas

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	840222,0	17			
Zonas	491150,0	1	491150,0	45722,7	61,82
Observaciones	318579,0	4	79644,8	25701,2	34,75
ERROR	30493,3	12	2541,11	2541,11	3,44

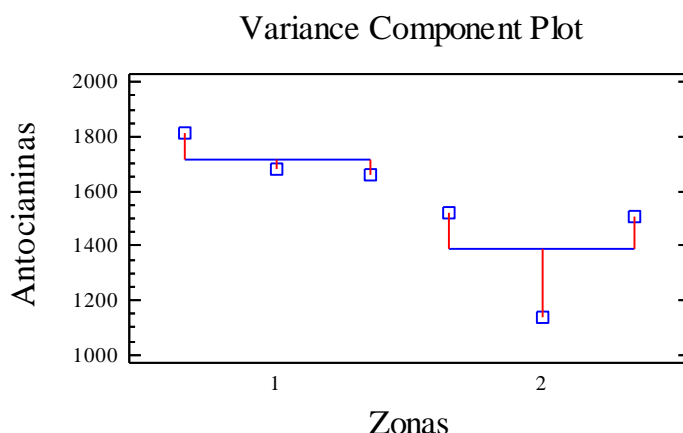


Gráfico N° 7. Componente de varianza para Antocianinas Totales

La variabilidad recae sobre las zonas de producción lo cual, quiere decir que, la situación geográfica tiene influencia sobre el contenido de antocianinas, además depende de la etapa de cosecha de cada uno de los productores en cada zona de producción ya que las antocianinas se encuentran ligadas con el color de la fruta y depende de su etapa de madurez.

4.2.1.6. Análisis estadístico de Carotenoides para la mora de las dos zonas de producción.

La variabilidad para el análisis estadístico de carotenoides se encuentra en las observaciones con un 72,86%, siendo para las zonas de producción un 19,41% de variabilidad, quiere decir, que existe diferencia significativa entre zonas de producción esto quiere decir que se rechaza la hipótesis nula en cuanto a las zonas de producción.

Se rechaza la hipótesis nula (Ho) para el caso de las observaciones, ya que existe una diferencia significativa entre ellas.

De manera gráfica se puede observar el anidamiento.

Tabla 15. Análisis de Varianza para la Variable Carotenoides

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	47,106	17			
Zonas	13,5027	1	13,5027	0,65363	19,41
Observaciones	30,48	4	7,62001	2,45324	72,86
ERROR	3,12333	12	0,260278	0,260278	7,73

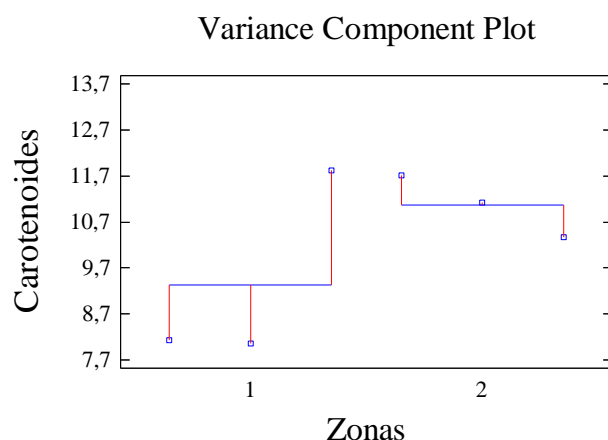


Gráfico N° 8. Componente de varianza para Carotenoides Totales

4.2.2. Análisis estadístico para uvilla

4.2.2.1. Análisis estadístico de vitamina C

El análisis estadístico realizado para Vitamina C indica que la variabilidad se encuentra en las zonas de producción con un 98,24 %, esto quiere decir que existe una diferencia significativa entre las zonas de producción, rechazándose la hipótesis nula (H_0), la mejor zona de producción es la Zona 1 perteneciente a Pillaro provincia de Tungurahua.

La tabla de ANOVA indica el porcentaje de variabilidad entre las zonas y observaciones y el gráfico presenta en anidamiento.

Tabla 16. Análisis de Varianza para la Variable Vitamina C

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	2310,09	17			
Zonas	2251,88	1	2251,88	248,978	98,24
Observaciones	44,3121	4	11,078	3,30642	1,30
ERROR	13,9053	12	1,15877	1,15877	0,46

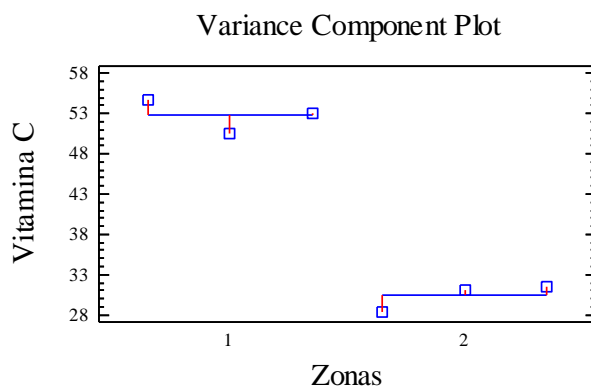


Gráfico N° 9. Componente de varianza para vitamina C en Uvilla

4.2.2.2. Análisis estadístico de Polifenoles para la Uvilla de las dos zonas de producción.

El análisis estadístico (ANOVA) realizados a la variable respuesta Polifenoles se presenta en la Tabla 17.

Tabla 17. Análisis de Varianza para la variable Polifenoles

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	2,31445E6	17			
Zonas	2,23435E6	1	2,23435E6	247586,0	97,60
Observaciones	7188,71	4	1797,18	0,0	0,00
ERROR	72907,7	12	6075,64	6075,64	2,40

Los Polifenoles analizados en uvilla indica que existe diferencia significativa entre las zonas de producción las cuales pertenecen a Píllaro provincia de Tungurahua y Mejía provincia de Pichincha con un porcentaje de variabilidad de un 97,60 %, siendo la mejor zona la perteneciente a la provincia de Tungurahua zona de producción Píllaro. Entre las observaciones no existe variabilidad, lo que significa que no se ha encontrado diferencias significativas entre ellas, por lo tanto se acepta la hipótesis nula ya que es igual a cero.

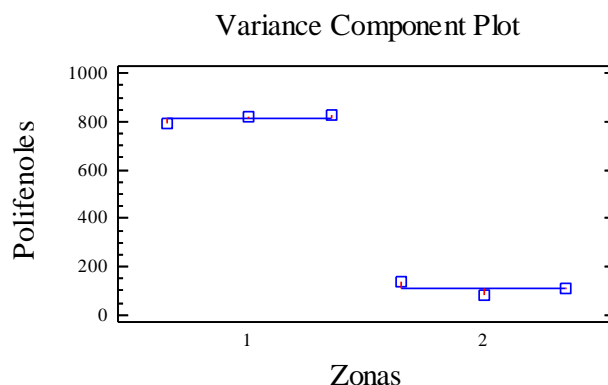


Gráfico N° 10. Componente de varianza para Polifenoles Totales en Uvilla

4.2.2.3. Análisis estadístico de Flavonoides para la Uvilla de las dos zonas de producción.

La variabilidad entre las zonas de producción es de un 84,71 % y para las observaciones de un 2,82 %, esto indica que existe diferencia significativa entre las dos zonas y sus respectivas observaciones.

Las hipótesis nulas (H_0) para los dos casos se rechazan, aceptándose las alternativas que son indicativos de una variabilidad o diferencia entre cada uno de los factores estudiados.

La zona con el mayor contenido de Flavonoides pertenece a la zona de Píllaro provincia de Tungurahua.

Tabla 18. Análisis de Varianza para la Variable Flavonoides

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	22,1594	17			
Zonas	17,0723	1	17,0723	1,84624	84,71
Observaciones	1,82436	4	0,456089	0,0613963	2,82
ERROR	3,2628	12	0,2719	0,2719	12,48

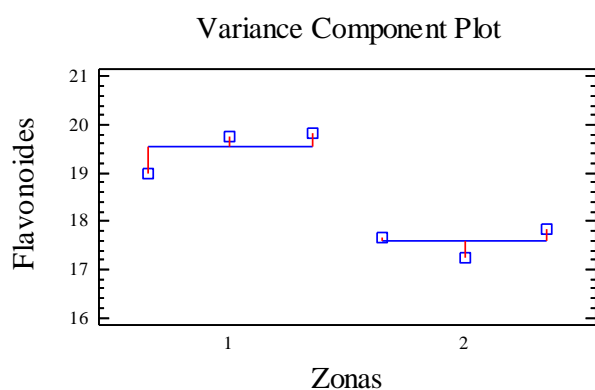


Gráfico N° 11. Componente de varianza para Flavonoides Totales en Uvilla

4.2.2.4. Análisis estadístico de Capacidad Antioxidante (ORAC) para la Uvilla de las dos zonas de producción.

Las zonas de producción tienen un 57,48 %, lo que indica que existe diferencia significativa entre zonas ya que son diferentes entre ellas por su ubicación geográfica como se denota en los análisis realizados para cada uno de los casos.

La zona de producción de uvilla perteneciente a Píllaro provincia de Tungurahua tiene un mayor porcentaje de capacidad antioxidante. Según el análisis de varianza realizado se rechaza las hipótesis nulas (H_0) esto quiere decir, que existe diferencia significativa entre las zonas de producción y sus respectivas observaciones.

Tabla 19. Análisis de Varianza para la Variable ORAC

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	499,569	17			
Zonas	251,478	1	251,478	23,9838	57,48
Observaciones	142,494	4	35,6234	8,94122	21,43
ERROR	105,598	12	8,79979	8,79979	21,09

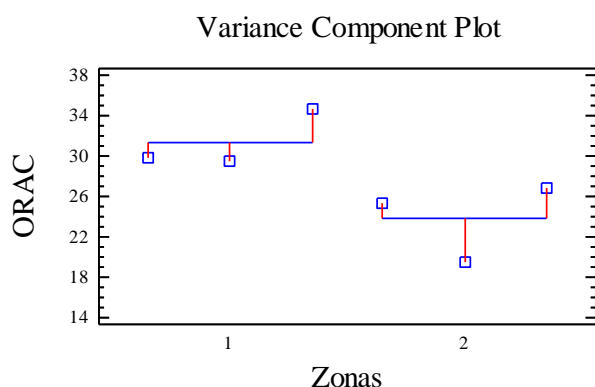


Gráfico N° 12. Componente de varianza para Capacidad antioxidante (ORAC) en Uvilla.

4.2.2.5. Análisis estadístico de Carotenoides para la Uvilla de las dos zonas de producción.

Según la tabla de varianzas ANOVA, las zonas de producción tienen una variabilidad del 26,54 % y para las observaciones una variabilidad del 62,59 %, esto nos indica que las observaciones tienen mayor diferencia entre ellas.

Se rechaza las hipótesis nulas (H_0) y aceptamos las alternativas, ya que son diferentes de cero.

La mejor zona de producción para el caso de Carotenoides es la perteneciente a la provincia de Tungurahua zona de producción Píllaro.

Tabla 20. Análisis de Varianza para la Variable Carotenoides

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	2219,31	17			
Zonas	712,531	1	712,531	43,2214	26,54
Observaciones	1294,15	4	323,539	101,94	62,59
ERROR	212,621	12	17,7184	17,7184	10,88

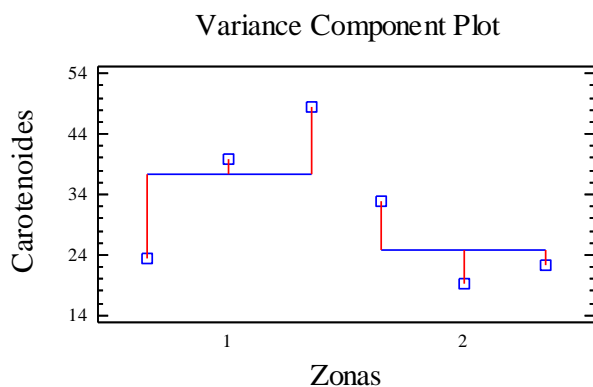


Gráfico N° 13. Componente de varianza para Carotenoides Totales en Uvilla.

4.2.3. Análisis estadístico en naranjilla

4.2.3.1. Análisis estadístico de vitamina C para Naranjilla de las dos zonas de producción.

El análisis estadístico realizado en Vitamina C para las naranjillas provenientes de las dos zonas de producción como son Archidona perteneciente a la provincia de Napo y El Reventador perteneciente a la provincia de Sucumbíos dan como resultado un porcentaje de variabilidad entre zonas de un 56,54 % y entre observaciones del 43,28 %.

La variabilidad expuesta en la tabla de ANOVA nos indica que existe diferencia significativa entre las dos zonas de producción y en cada una de las observaciones realizadas.

Se rechaza las hipótesis nulas (H_0) y por ende se aceptan las hipótesis alternativas que indican una diferencia entre ellas.

La zona de producción con el mayor contenido de vitamina C es la perteneciente a la provincia de Archidona provincia de Napo.

Tabla 21. Análisis de Varianza para la Variable Vitamina C

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	1569,7	17			
Zonas	863,617	1	863,617	76,427	56,54
Observaciones	703,095	4	175,774	58,5084	43,28
ERROR	2,9838	12	0,24865	0,24865	0,18

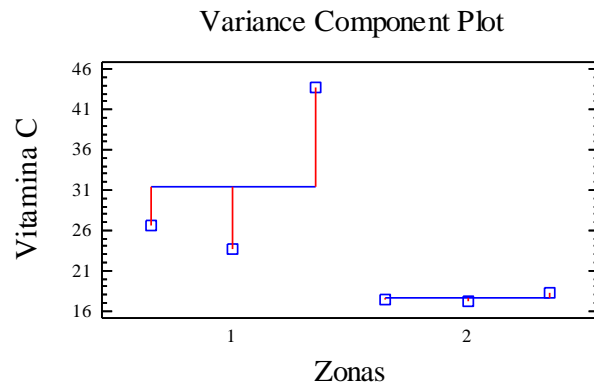


Gráfico N° 14. Componente de varianza para Vitamina C en Naranja

4.2.3.2. Análisis estadístico de Polifenoles para la Naranja de las dos zonas de producción.

La tabla de ANOVA para Polifenoles en naranja indica que, un 80,15 % de variabilidad existe entre las zonas de producción, es decir que existe diferencia significativa entre zonas de producción.

Según la variabilidad expuesta en la tabla 22 se rechaza la hipótesis nula (H_0) y aceptamos la alternativa de que existe diferencia significativa entre zonas. Para el caso de las observaciones aceptamos la hipótesis nula (H_0), ya que son iguales a cero.

La zona de producción con el mayor contenido de Polifenoles en naranja es Archidona perteneciente a la provincia de Napo como se observa en el gráfico 15.

Tabla 22. Análisis de Varianza para la Variable Polifenoles

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	291074,0	17			
Zonas	204862,0	1	204862,0	22152,8	80,15
Observaciones	20368,1	4	5092,02	0,0	0,00
ERROR	65844,2	12	5487,02	5487,02	19,85

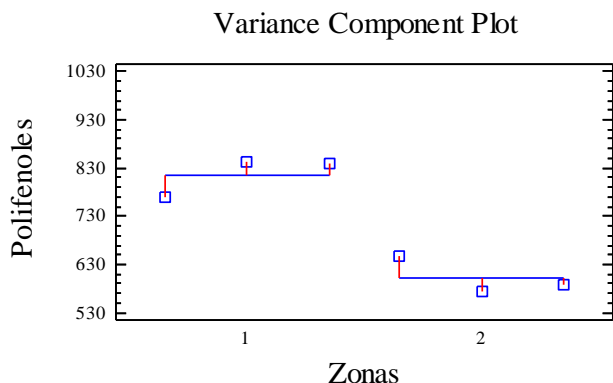


Gráfico N° 15. Componente de varianza para Polifenoles Totales en Naranja.

4.2.3.3. Análisis estadístico de Flavonoides para la Naranja de las dos zonas de producción.

La variabilidad entre las zonas de producción es del 66,60 % y para las observaciones de un 26,75 % es decir, que existe diferencia significativa entre las dos zonas de producción y observaciones.

Se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se acepta las hipótesis alternativas ya que son diferentes de cero

La zona con las mejores características para Flavonoides en naranja es de la provincia de Napo zona de producción perteneciente a Archidona como se muestra en el gráfico 16.

Tabla 23. Análisis de Varianza para la Variable Flavonoides

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	76,242	17			
Zonas	46,9804	1	46,9804	4,55901	66,60
Observaciones	23,797	4	5,94924	1,83128	26,75
ERROR	5,46467	12	0,455389	0,455389	6,65

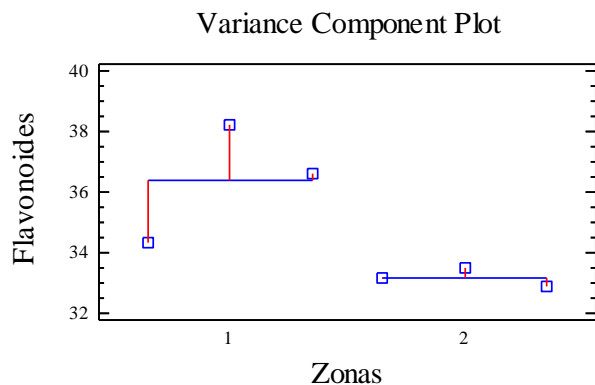


Gráfico N° 16. Componente de varianza para Polifenoles Totales en Naranjilla

4.2.3.4. Análisis estadístico de Capacidad Antioxidante (ORAC) para la Naranjilla de las dos zonas de producción.

El análisis estadístico realizado en ORAC (capacidad antioxidante) da como resultado que existe un porcentaje de variabilidad de 98,76 % para el caso de las zonas de producción estudiadas.

Las hipótesis planteadas se rechazan para los dos factores en estudio.

Tabla 24. Análisis de Varianza para la Variable ORAC

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	17692,8	17			
Zonas	17354,5	1	17354,5	1922,88	98,76
Observaciones	194,337	4	48,5842	12,1959	0,63
ERROR	143,956	12	11,9964	11,9964	0,62

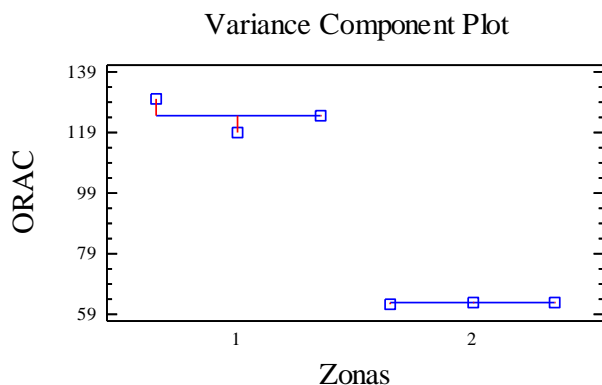


Gráfico N° 17. Componente de varianza para capacidad antioxidante (ORAC) en Naranjilla

4.2.3.5. Análisis estadístico de Carotenoides para la Naranjilla de las dos zonas de producción.

El análisis estadístico de Carotenoides para la naranjilla indica que existe un 96,23 % de variabilidad entre las zonas de producción la cuales son Archidona y El Reventador pertenecientes a las provincias de Napo y Sucumbíos respectivamente.

Existe diferencia significativa entre las dos zonas por este motivo se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, para el caso de las observaciones aceptamos la hipótesis nula, es decir, no existe diferencias entre las observaciones ya que son iguales a cero.

Tabla 25. Análisis de Varianza para la Variable Carotenoides

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	2206,56	17			
Zonas	2084,43	1	2084,43	230,6	96,23
Observaciones	13,7716	4	3,44289	0,0	0,00
ERROR	108,36	12	9,03002	9,03002	3,77

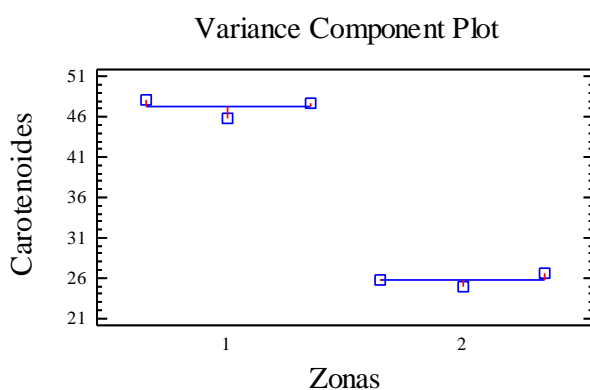


Gráfico N° 18. Componente de varianza para Carotenoides Totales en Naranjilla

4.2.4. Análisis estadístico en tomate de árbol

4.2.4.1. Análisis estadístico de vitamina C para Tomate de árbol de las dos zonas de producción.

La variabilidad entre las dos zonas de producción que son Pelileo y Chaltura pertenecientes a las provincias de Tungurahua e Imbabura respectivamente, es de 56,31 % y para las observaciones de un 42,399 %.

Se rechazan las hipótesis nulas por lo que existe una diferencia significativa entre zonas de producción y observaciones.

La tabla de ANOVA y el gráfico indica la variabilidad entre los factores y su anidamiento.

Tabla 26. Análisis de Varianza para la Variable Vitamina C

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	443,956	17			
Zonas	242,147	1	242,147	21,464	56,31
Observaciones	195,881	4	48,9704	16,1588	42,39
ERROR	5,92747	12	0,493956	0,493956	1,30

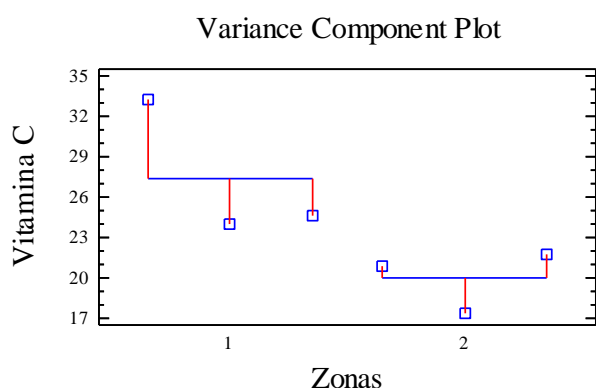


Gráfico N° 19. Componente de varianza para Vitamina C en Tomate de árbol

4.2.4.2. Análisis estadístico de Polifenoles para Tomate de árbol de las dos zonas de producción.

La variabilidad se encuentra en la respuesta experimental directamente con el 100 %.

Se aceptan la hipótesis nula es decir, que no existe diferencia significativa entre las dos zonas de producción que son Pelileo y Chaltura. Para el caso de las

observaciones de igual manera se acepta la hipótesis nula ya que no hay diferencia significativa entre ellas.

En este caso las dos zonas de producción son similares con el contenido de Polifenoles en el tomate de árbol.

Tabla 27. Análisis de Varianza para la Variable Polifenoles

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	105424,0	17			
Zonas	887,609	1	887,609	0,0	0,00
Observaciones	11779,3	4	2944,82	0,0	0,00
ERROR	92757,0	12	7729,75	7729,75	100,00

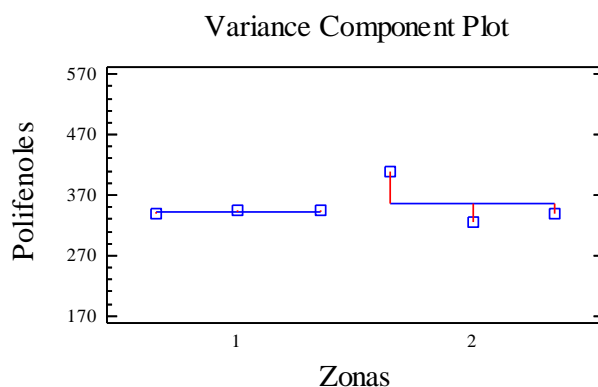


Gráfico N° 20. Componente de varianza para Polifenoles Totales en Tomate de árbol.

4.2.4.3. Análisis estadístico de Flavonoides para Tomate de árbol de las dos zonas de producción.

El análisis estadístico en Flavonoides para tomate de árbol indica un porcentaje de variabilidad de 93,82 % para las zonas de producción y para las observaciones del 2,03 %.

Se rechazan las hipótesis nulas y se aceptan las hipótesis alternativas, que son aquellas que indican que hay diferencia significativa entre ellas.

En la tabla de varianzas ANOVA y en el gráfico indica la variabilidad existente entre zonas y observaciones.

Tabla 28. Análisis de Varianza para la Variable Flavonoides

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	881,863	17			
Zonas	797,202	1	797,202	87,5178	93,82
Observaciones	38,1705	4	9,54263	1,88949	2,03
ERROR	46,4899	12	3,87416	3,87416	4,15

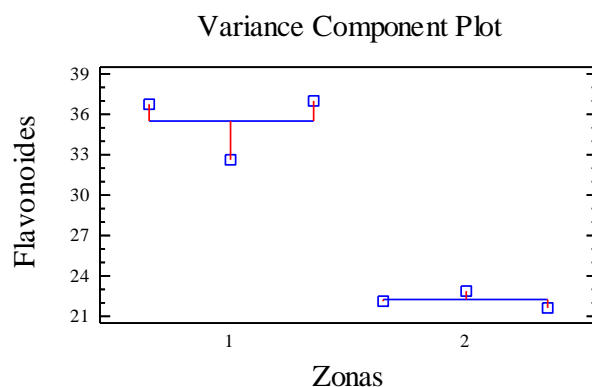


Gráfico N° 21. Componente de varianza para Flavonoides Totales en Tomate de árbol.

4.2.4.4. Análisis estadístico de Capacidad Antioxidante (ORAC) para Tomate de árbol de las dos zonas de producción.

Las zonas de producción tienen una variabilidad del 90,80 % y para las observaciones un porcentaje del 2,94 %. Se rechazan las hipótesis nulas y aceptamos las hipótesis alternativas, ya que son diferentes de cero.

La zona de producción que tiene el mayor contenido de Capacidad antioxidante en tomate de árbol es Pelileo perteneciente a la provincia de Tungurahua con relación al tomate de árbol perteneciente a Chaltura provincia de Imbabura.

Tabla 29. Análisis de Varianza para la Variable ORAC

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	2673,75	17			
Zonas	2299,55	1	2299,55	250,876	90,80
Observaciones	166,665	4	41,6662	8,12391	2,94
ERROR	207,533	12	17,2944	17,2944	6,26

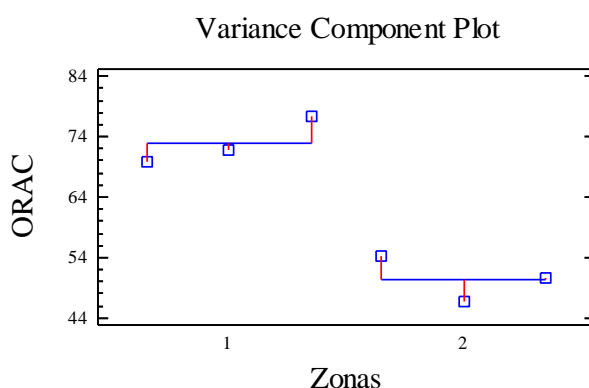


Gráfico N° 22. Componente de varianza para Capacidad antioxidante (ORAC) en Tomate de árbol.

4.2.4.5. Análisis estadístico de Carotenoides para la Tomate de árbol de las dos zonas de producción.

La tabla de varianza para Carotenoides indica que la zonas tiene una variabilidad del 31,94 % y las observaciones un 19,31 %.

Según la variabilidad para los dos factores en estudio se rechaza la hipótesis nula, esto quiere decir, que hay diferencia significativa entre las dos zonas de producción y las observaciones.

Tabla 30. Análisis de Varianza para la Variable Carotenoides

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	1945,07	17			
Zonas	417,99	1	417,99	25,355	19,31
Observaciones	759,182	4	189,796	41,9347	31,94
ERROR	767,897	12	63,9914	63,9914	48,74

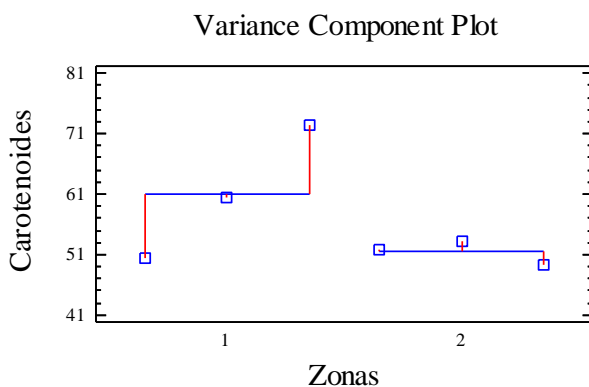


Gráfico N° 23. Componente de varianza para Carotenoides Totales en Tomate de árbol.

4.2.5. Análisis estadístico en ciruela

4.2.5.1. Análisis estadístico de vitamina C para Ciruela de las dos zonas de producción.

Para el análisis de varianza para la variable vitamina C da como resultado que existe una variabilidad del 77,08 % para las zonas de producción ya para las observaciones con un valor de 19,65 %.

Las hipótesis nulas para estos factores se rechazan ya que entre zonas de producción y observaciones son diferentes, es decir, existe una diferencia significativa como se observa en la tabla de ANOVA y el gráfico.

Tabla 31. Análisis de Varianza para la Variable Vitamina C

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	276,234	17			
Zonas	200,0	1	200,0	20,3929	77,08
Observaciones	65,8574	4	16,4643	5,19988	19,65
ERROR	10,3763	12	0,864694	0,864694	3,27

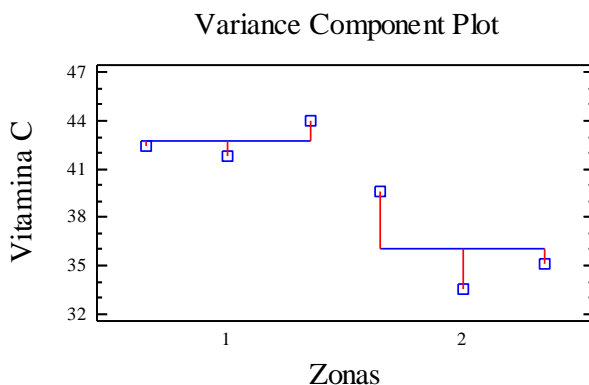


Gráfico N° 24. Componente de varianza para Vitamina C en Ciruela.

4.2.5.2. Análisis estadístico de Polifenoles para Ciruela de las dos zonas de producción.

El 12,02 % de variabilidad le pertenece a las observaciones y un 8,53 % de variabilidad a las zonas de producción de la ciruela provenientes de los cantones de Petrillo y Juntas del Pacífico perteneciente a las provincias de Guayas y Santa Elena.

Las hipótesis nulas se rechazan para el caso de los dos factores, es decir, que existe diferencia significativa entre zonas de producción y observaciones.

Tabla 32. Análisis de Varianza para la Variable Polifenoles

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	78535,1	17			
Zonas	9394,09	1	9394,09	416,855	8,53
Observaciones	22569,6	4	5642,4	587,147	12,02
ERROR	46571,5	12	3880,95	3880,95	79,45

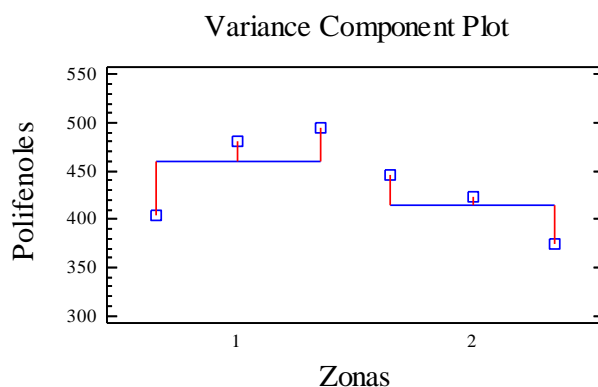


Gráfico N° 25. Componente de varianza para Polifenoles Totales en Ciruela.

4.2.5.3. Análisis estadístico de Flavonoides para Ciruela de las dos zonas de producción.

El análisis estadístico (ANOVA) realizados a la variable respuesta Flavonoides se presenta en la Tabla 33.

Tabla 33. Análisis de Varianza para la Variable Flavonoides

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	114,962	17			
Zonas	7,7618	1	7,7618	0,0893352	1,31
Observaciones	27,8311	4	6,95778	0,11457	1,68
ERROR	79,3689	12	6,61407	6,61407	97,01

El análisis estadístico realizado para la variable Flavonoides da como resultado que la variabilidad entre zonas de producción es de 1,31 % y para las observaciones es de un 1,68 %.

Se rechaza la hipótesis nula ya que son diferentes de cero, es decir, existe diferencia significativa.

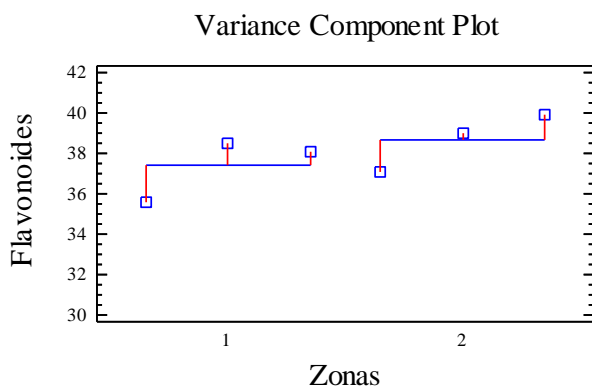


Gráfico N° 26. Componente de varianza para Flavonoides Totales en Ciruela

4.2.5.4. Análisis estadístico de Capacidad Antioxidante (ORAC) para Ciruela de las dos zonas de producción.

El análisis estadístico para la capacidad antioxidante dio como resultado un porcentaje de variabilidad entre zonas de producción del 57,65 % y para el caso de las observaciones una variabilidad del 4,31 %.

Entre las zonas de producción existe variabilidad lo que significa, que existe diferencia significativa entre las dos zonas

Tabla 34. Análisis de Varianza para la Variable Capacidad antioxidante (ORAC)

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	422,897	17			
Zonas	195,888	1	195,888	19,8184	57,65
Observaciones	70,0913	4	17,5228	1,48212	4,31
ERROR	156,917	12	13,0765	13,0765	38,04

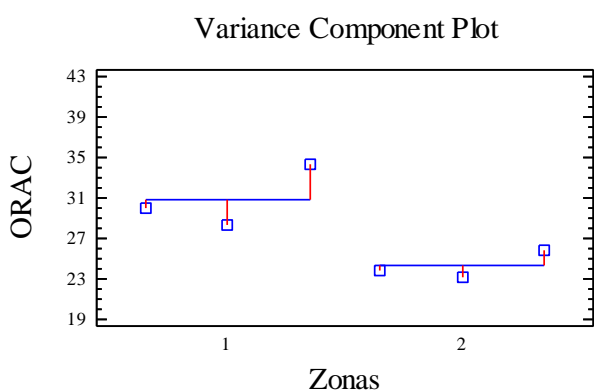


Gráfico N° 27. Componente de varianza para Capacidad antioxidante (ORAC) en Ciruela.

4.2.5.5. Análisis estadístico de Carotenoides para la Ciruela de las dos zonas de producción.

El análisis de varianza para la variable Carotenoides, la variabilidad se encuentra netamente en la variable respuesta que son los Carotenoides.

No hay variabilidad entre factores lo que significa que las zonas de producción pertenecientes a Petrillo y Juntas del Pacífico son iguales, de igual manera en el caso de las observaciones no hay diferencia significativa, por lo cual aceptamos las hipótesis nulas.

Tabla 35. Análisis de Varianza para la Variable Carotenoides

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Componentes Varianza.	Porcentaje
TOTAL (CORRECTED)	259,814	17			
Zonas	7,7618	1	7,7618	0,0	0,00
Observaciones	43,6009	4	10,9002	0,0	0,00
ERROR	208,451	12	17,3709	17,3709	100,00

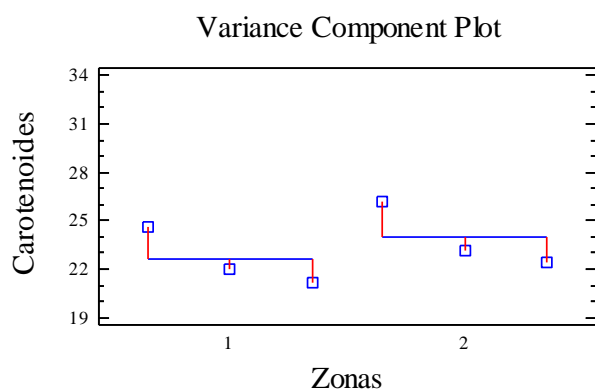


Gráfico N° 28. Componente de varianza para Carotenoides Totales en Ciruela

4.3. Verificación de hipótesis

Según los análisis realizados y la discusión expuesta en el literal 4.2 se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, es decir, que existe diferencia significativa entre las zonas de producción y las observaciones. Excepto para los casos de: capacidad antioxidante (ORAC) en mora para factor B (observaciones), polifenoles en uvilla para el factor B (observaciones), carotenoides totales en ciruela, carotenoides totales en naranjilla para el factor B (observaciones), polifenoles totales en tomate de árbol, en los que se aceptan las hipótesis nulas.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Se determinó la influencia de las zonas de producción sobre el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante de cinco frutas andinas como son: mora, uvilla, tomate de árbol, naranjilla y ciruela. Para este trabajo se realizó muestreos en dos zonas de producción, con el mismo manejo agronómico y de la misma variedad para cada una de las frutas. Después de realizar los análisis para la determinación de los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante se determinó que la mora tiene el mayor contenido de estos compuestos seguida de la naranjilla y tomate de árbol, la uvilla y ciruela son similares en cuanto al la cantidad de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante. Además se determinó que entre zonas de producción existe diferencia en el contenido de los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante. Entre las zonas consideradas, las frutas con mayor capacidad antioxidante fueron: mora de Ambato, uvilla de Píllaro, naranjilla de Archidona, tomate de árbol de Pelileo y ciruela de Petrillo.
- Se correlacionó el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante con las zonas de producción obteniendo que existe una buena relación entre el contenido de componentes bioactivos, capacidad antioxidante y cada uno de los factores climáticos pertenecientes a cada zona estudiada.
- Se estableció la relación entre los compuestos bioactivos, capacidad antioxidante y factores ambientales de cada zona, para lo cual se realizó correlaciones de Pearson que nos indicó que para cada fruta existen

factores ambientales que influyen directamente y en forma particular sobre sus componentes bioactivos y capacidad antioxidante.

- Se identificó el mejor compuesto bioactivo y la fruta con las mejores propiedades antioxidantes con los análisis realizados. La mora es una de la mejores frutas pero vale recalcar que las otra fruta también tienen un contenido de capacidad antioxidante notorio, lo cual permite escoger cualquiera de ellas para realizar la identificación individual de los compuestos bioactivos para la incorporación al nuevo alimento funcional ya que en este trabajo se determinó los compuestos bioactivos totales. Los compuestos bioactivos en mayor cantidad son los polifenoles y flavonoides ya que están presentes en gran cantidad en la mayoría de frutas.

5.2. Recomendaciones

- Se recomienda que al momento de trabajar con este tipo de compuestos tener precaución en la preparación de las muestras, ya que se oxidan rápidamente y se pierde la capacidad antioxidante y compuestos como carotenoides y vitamina C que son muy sensibles con la luz.
- Se recomienda trabajar en una área oscura para realizar los métodos de carotenoides y capacidad antioxidante por lo expuesto anteriormente, sensibilidad ante la luz.
- Para realizar el análisis de capacidad antioxidante ORAC, se recomienda trabajar con mucha precaución y atención ya que es un método muy sensible a la luz y además las cantidades usadas para el análisis en el equipo de lectura usado (espectrofluorómetro) son muy pequeñas y su acondicionamiento debe ser correcto para no tener inconvenientes en la lectura de capacidad antioxidante y las curvas de calibración usadas. Los reactivos deben ser preparados para el día no se deben de guardar.

CAPÍTULO VI

PROPUESTA

6.1. Datos informativos

6.1.1. Título

Identificación de componentes bioactivos en mora con las mejores propiedades antioxidantes, por HPLC – MS

6.1.2. Institución Ejecutora

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación Experimental Santa Catalina, Laboratorios del Departamento de Nutrición y Calidad.

6.1.3. Beneficiarios

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación Experimental Santa Catalina, Laboratorios del Departamento de Nutrición y Calidad.

Centros de investigaciones nacionales e internacionales, empresas agroindustriales.

6.1.4. Ubicación

Provincia: Pichincha

Cantón: Mejía

Parroquia: Cutuglagua – Estación Experimental Santa Catalina (EESC)

6.1.5. Tiempo estimado para la ejecución

Un año

6.1.6. Equipo técnico responsable

Investigadores del Departamento de Nutrición y Calidad (INIAP), estudiantes, tesisistas o becarios que se encuentren trabajando en la identificación de componentes bioactivos en frutas por HPLC - MS.

6.2. Antecedentes de la propuesta

El consumo de frutas está creciendo en el mercado nacional e internacional debido a que son fuentes de vitaminas, minerales y otros compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes que le proporciona valor nutricional y terapéutico (Vasco *et al.*, 2008).

Los compuestos antioxidantes tales como las vitaminas C y E, β -caroteno y una mezcla compleja de compuestos fenólicos que incluyen los flavonoides y antocianinas, presentes en las frutas, poseen la capacidad de contrarrestar el efecto en el organismo de los radicales libres, resultantes de las reacciones oxidativas que acompañan el metabolismo y que de acuerdo a diversos estudios han demostrado, ser parte de la etiología de una diversidad de enfermedades crónicas-degenerativas (Kaur & Kapoor, 2001). De la misma manera, otras investigaciones señalan que las condiciones climáticas propias de las zonas tropicales con altas temperaturas y fuerte radiación solar, favorecen una mayor síntesis de compuestos antioxidantes por parte de las plantas, como un mecanismo de defensa para contrarrestar las plagas (Rufino *et al.*, 2012).

Recientemente, los alimentos y en particular las frutas y los vegetales han asumido una nueva función, en la medida que proveen beneficios fisiológicos adicionales como prevenir y proteger contra enfermedades asociadas con el estrés oxidativo. Por ello, algunos investigadores han clasificado estos productos bajo el término de "alimentos funcionales". Son estos antecedentes, los que conducen a pensar que a partir del escenario actual y como consecuencia de la proyecciones de desarrollo de la industria, se viene conformando una valiosa fuente de

oportunidades para agregar valor a la cadena de suministro de materia prima.(Perez, 2009).

6.3. Justificación

La presente investigación servirá para la caracterización de componentes bioactivos de mora lo cual servirá para la incorporación a un alimento funcional el cual sirva como una fuente de nutrientes para el cuerpo humano con su ingesta.

En los últimos años se han incrementado el estudio sobre compuestos bioactivo debido a que en especial las frutas tienen una gran cantidad de dichos compuestos lo que es muy favorable para el consumo humano y sobre todo incorporando estos compuestos en alimentos funcionales ya que contienen múltiples beneficios en la salud humana.

6.4. Objetivos

6.4.1. Objetivo General

- Identificar componentes bioactivos en mora con las mejores propiedades antioxidantes, por HPLC – MS

6.4.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar un compuesto bioactivo de mora con las mejores propiedades antioxidantes para su posterior incorporación a un alimento funcional.
- Evaluar el compuesto bioactivo para ser utilizado como un ingrediente alimentario.
- Incorporar el compuesto bioactivo identificado a un alimento funcional.

6.5. Análisis de factibilidad

El presente proyecto de investigación “Identificación de componentes bioactivos en mora con las mejores propiedades antioxidantes, por HPLC – MS” se asegura con los resultados obtenidos con la culminación del trabajo de investigación “Determinación de la influencia de las zonas de producción sobre el contenido de componentes bioactivos y la capacidad antioxidante de cinco frutas andinas”. Por ende los resultados a obtenerse con esta propuesta se los realizará sin ningún inconveniente.

6.6. Fundamentación

Las investigaciones sobre la eficacia de compuestos naturales con propiedades antioxidantes y el potencial antioxidante de diferentes productos biológicos han aumentado, orientando hacia el consumo de una dieta más saludable. De acuerdo con los resultados reportados por el World Cancer Research Fund (WCRF) (www.wcrf.org) en su informe Diet and Cancer Report, la ingesta diaria recomendada de frutas y hortalizas es de 5 porciones (equivalentes a 400 g/día), además de granos y leguminosas que aporten 25 g diarios de polisacáridos (Pérez, 2009).

El término alimento funcional hace referencia a alimentos o ingredientes que mejoran el estado general de salud y/o reducen el riesgo de enfermedad. Se trata además de productos alimenticios que deben consumirse dentro de la dieta habitual para conseguir efectos beneficiosos que van más allá de los requerimientos nutricionales tradicionales (Leyva, 2009).

6.7. Metodología

Los compuestos bioactivo predominante en todas las frutas son los polifenoles, flavonoides, vitamina C y carotenoides.

Para la identificación de los compuestos bioactivos por HPLC se puede utilizar el siguiente procedimiento.

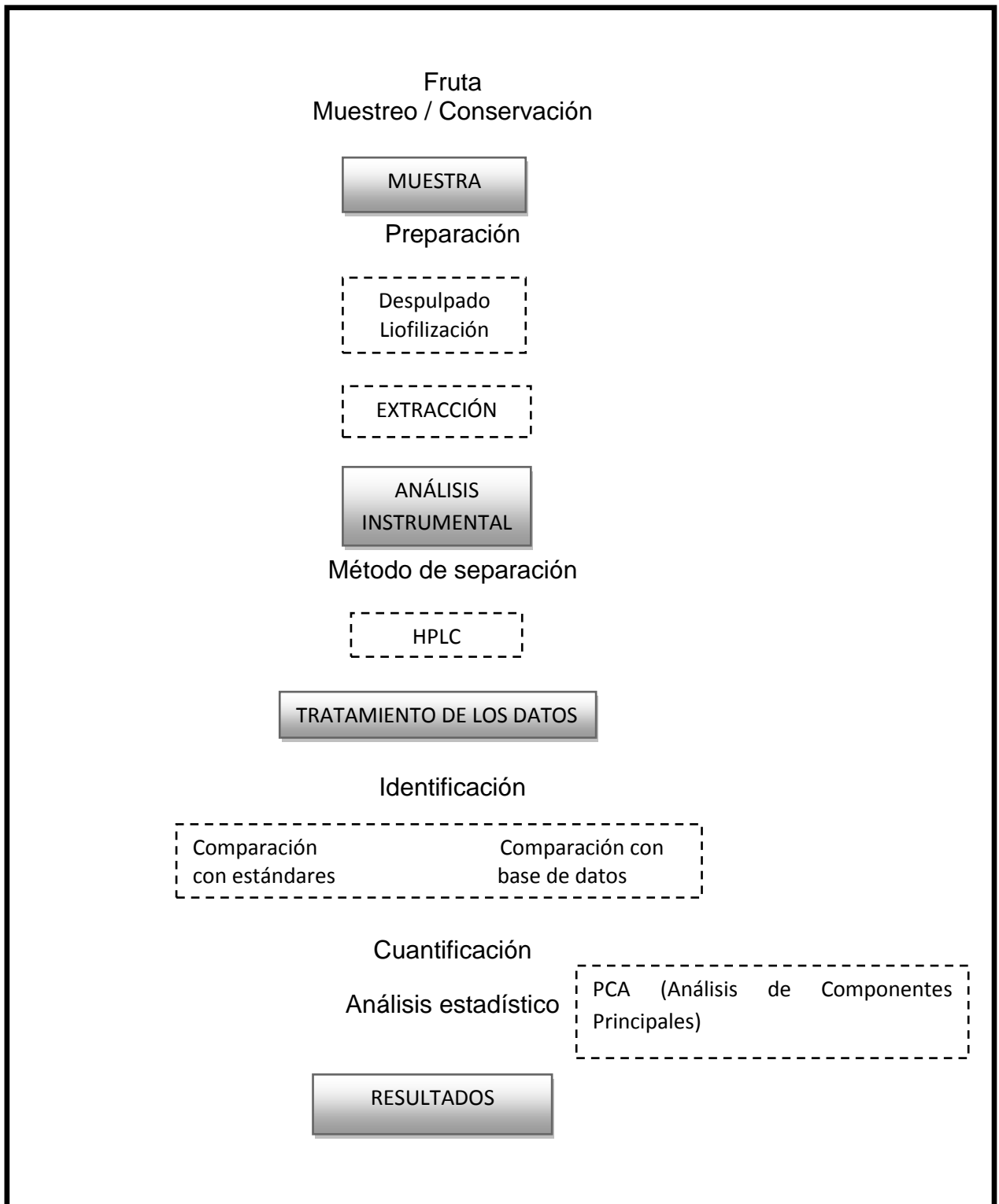


Gráfico 29. Diagrama de procesos de identificación de componentes bioactivos por HPLC.

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

6.8. Administración

La ejecución de la presente propuesta estará coordinada por la Directora del Proyecto junto al grupo de Investigadores del Departamento de Nutrición y Calidad (INIAP), que se encuentren trabajando en el mismo.

Cuadro 21. Administración de la propuesta.

Indicadores a mejorar	Situación actual	Resultados esperados	Actividades	Responsable
Integración del compuesto bioactivo a un alimento funcional	<p>Auge sobre el uso de compuestos bioactivos en alimentos funcionales</p> <p>Falta de información acerca de este tipo de estudios</p>	<p>Identificación del compuesto bioactivo de la fruta de mayor relevancia</p> <p>Obtención de un alimento funcional con la integración de un compuesto bioactivo</p>	Identificación del compuesto bioactivo por HPLC	<p>Investigadores</p> <p>Tesistas</p> <p>Becarios</p>

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

6.9. Previsión de la evaluación

Cuadro 22. Previsión de la Evaluación.

Preguntas Básicas	Explicación
¿Quiénes solicitan evaluar?	Investigadores

¿Por qué evaluar?	Proporciona información acerca del compuesto bioactivo con más importancia y por ende va hacer el compuesto que forme parte de un alimento funcional.
¿Para qué evaluar?	Para la identificación del compuesto de mayor relevancia
¿Qué evaluar?	El compuesto bioactivo por HPLC
¿Quién evalúa?	Investigadores, Tesista, Becarios
¿Cuándo evaluar?	Al finalizar la identificación del compuesto bioactivo
¿Cómo evaluar?	Realizando identificación por HPLC
¿Con qué evaluar?	PCA u otros programas estadísticos

Elaborado por: Cristina Poveda, 2014

MATERIALES DE REFERENCIA

Bibliografía

Almajano, M. P. (2009). *Determinación de la actividad antioxidante*. Barcelona-España: Consorci Escola Industrial de Barcelona.

Altamirano, M. (2010). *Estudio de la cadena productiva de uvilla (Physalis peruviana L.) en la Sierra Norte del Ecuador*. Quito - Ecuador: Proyecto de grado presentado como requisito para la obtención del título de Ingeniero en Agroempresas.

Aviles, K. (2012). *Estudio del proceso de rehidratación de tomate de árbol (Solanum betaceum cav) variedad anaranjado gigante*. Riobamba - Ecuador: Tesis de grado previa la obtención de Bioquímico Farmacéutico.

Baracaldo, C., & Castro, L. (1998). Biodisponibilidad de carotenoides. *Biomédica*, 18 (4), 285-290 pp.

Begoña, A., Granado, F., & Blanco, I. (2001). *Carotenoides y salud humana*. Madrid-España: Fundación Española de la Nutrición (F.E.N).

Brito, B. (2009). *Caracterización física, química y funcionales de las frutas ecuatorianas*. INIAP - Quito: Seminario Creando nuevas oportunidades de negocio: Productos funcionales naturales.

Cabezas, M. (2008). *Evaluación nutritiva y nutracéutica de de la mora de castilla (Rubus glaucus.) deshidratada a tres temperaturas por el método de secado en bandejas*. Riobamba - Ecuador: Tesis de grado previa la obtención de Ingeniera Farmacéutica.

Castillo, A. (2007). *Ciruelo*. Archivo de blog.

Cerón, I., Higuera, J., & Cardona, C. (2010). Capacidad antioxidante y contenido fenólico total de tres frutas cultivadas en la región andina. *Vector 5*, 17-26 pp.

CITA. (2010). *Determinación de la actividad antioxidante. Método ORAC, número AQCITA-M037 con espectrofluorómetro Bioteck*. Costa Rica.

Dhuique-Mayer, C., Caris-Veyrat, C., Ollitrault, P., Curk, F., & Amiot, M. (2005). Varietal and Interspecific Influence on Micronutrient Contents in Citrus from the Mediterranean Area. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (6), 2140-2145 pp.

Diario EL COMERCIO. Ahora es época de comer el hobo y la ciruela. Disponible en:

file:///G:/consulta%20frutas%20tesis/Ahora%20es%20%C3%A9poca%20de%20comer%20el%20hobo%20y%20la%20ciruela.htm.

Dudonné S, Vitrac X, Coutière P, Woillez M & Morillon J. 2009. *Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays*. *J Agric Food Chem*; 57 (5):1768–1774 pp.

Dwyer, J. (1996). Is there a need to change the American Diet?. In: *Dietary Phytochemicals in Cancer Prevention and treatment. Adv. Experiment. Med. Biol.* , 401:192:193 pp.

Einbonda, L., Reynertsona, K., DongLuo, X., & Basileb, M. (2004). Anthocyanin antioxidants from edible fruits. *Food Chemistry*, 84, 23-28 pp.

Espinal, M. (2010). *Capacidad antioxidante y ablandamiento de la guayaba palmira ICA I (Psidium guajava)*. Bogotá-Colombia: Tesis presentada como requisito para optar al título de Magíster en Ciencias Química. Universidad Nacional de Colombia.

García, M., & Torres, R. (2002). Evaluación preliminar de algunos empaques, como alternativa para prolongar la vida útil de la uchuva. *Seminario Nacional Frutas de Clima Frío Moderado*, (págs. 257, 259 p). Medellín - Colombia.

Gerogé, S., Brat, P., Alter, P., & Amiot, M. (2005). Rapid Determination of Polyphenols and Vitamin C in Plant- Derived Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1370-1373 pp.

Huang, D., Ou, B., & Prior, R. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 53, 1841-1856 pp.

Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J., & Prior, R. (2002). High-Throughput Assay of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Using a Multichannel Liquid Handling System Coupled with a Microplate Fluorescence Reader in 96-Well Format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (16), 4437-4444 pp.

Huang, Y., Chang, Y., & Shao, Y. (2006). Effects of genotype and treatment on the antioxidant activity of sweet potato in Taiwan. *Food Chemistry*, 98 (3), 529.

INEN, I. E. (2008). *Patente n° 2475*. Quito - Ecuador.

Jara, J. (2011). *Obtención de productos deshidratados de naranjilla (Solanum quitoense Lam.) utilizando procesos térmicos de secado con aire forzado*. Riobamba - Ecuador: Tesis de grado previa la obtención del título de Bioquímica Farmacéutica.

Kaur, C., & Kapoor, H. (2001). Review. Antioxidant in fruits and vegetables-the millennium s health. *International Journal of Food Science and Technology* (36), 703-725 pp.

Kuskoski, M., Asuero, A., Gracia, C., Troncoso, A., & Fett, R. (2004). Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. *Ciencia, Tecnología de Alimentos*, 24 (4), 691-693 pp.

Laverde, J. L. (2010). *Estudio de las condiciones óptimas para para la obtención de jugos clarificados de Arazá (Eugenia Stipitata), mediante procesos enzimáticos y membranari*. . Quito- Ecuador: Proyecto previo a la obtención de del Título de Ingeniero Agroindustrial.

Leyva, D. E. (2009). *Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y frutos de mora*. Oaxaca - México: Universidad Tecnológica de la Mixteca.

López, A. (2011). *Determinación de las características fisico-químicas y estudio de los índices de calidad en el comportamiento postcosecha en clones élite provenientes de cruzamientos de naranjilla en la provincia de Pastaza*. Ibarra: Tesis de Ingeniera Agroindustrial. Universidad Tecnica del Norte.

Medina, G. (2006). *Determinación del potencial nutricional y nutracéutico de dos ecotipos de uvilla (*Physalis peruviana* L.) y Granadilla (*Passiflora ligularis* L.)*. Riobamba-Ecuador: Tesis de Grado previa la obtención del Título de Doctora en Bioquímica y Farmacia.

Merck. (2003). *Test de ácido ascórbico, método reflectométrico con tiras de ensayo 25/450 mg/L*. Darmstadt, AL.

Mertz, C., Gancel, A., Gunata, Z., Alter, P., Dhuique-Mayer, C., Vaillant, F., y otros. (2009). Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 381–387 pp.

Montalvo, D. (2011). *Evaluación de la calidad poscosecha de las accesiones seleccionadas de mora de catilla (*Rubus glaucus* Benth) provenientes de las provincias de Tungurahua y Bolívar*. Quito, EC,: Tesis de Ingeniero Agroindustrial, Escuela Politécnica Nacional.

Moreira, R. (2012). *“Identificación, caracterización y colección ex situ de ecotipos de “Ciruela de la Costa” *Spondias purpurea* en las condiciones de la franja central de la Cordillera de Chongón”*. Guayaquil - Ecuador: Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.

Murillo, E. (2002). *Actividad antioxidante de bebidas de frutas y de té comercializadas en Costa Rica*. Panamá: Instituto de Alimentación y Nutrición (IANUT).

- Palencia, J. (2012). *Sustancias bioactivas en alimentos*.
- Pérez, A. M. (2009). *Los productos derivados de frutas: Fuentes de antioxidantes*. Costa Rica: Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA).
- Pérez, A. M. (2009). *Los productos derivados de frutas: Fuentes de antioxidantes*. Costa Rica: Investigadora CITA-UCR Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA).
- Prior, R., Hoang, H., Gu, L., Wu, X., Bacchiocca, M., Howard, L., y otros. (2003). Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and other biological and food samples. *Journal Of Agricultural Food Chemistry*, 51, 3273-3279 pp.
- Prior, R., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4290-4302 pp.
- Rapidasarda, P., Fanella, F., & Maccarone, E. (2000). Reliability of Analytical Methods for Determining Anthocyanina in Blood Orange Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2249-2252 pp.
- Revelo, V. (2011). *Evaluación de la calidad poscosecha en genotipos mejorados e injertos de tomate de arbol (Solanum betaceum Cav.)*. Quito, EC, Escuela Politécnica Nacional.: Tesis de Ingeniero Industrial.
- Rivas, G., & García, A. (2002). Flavonoides en alimentos vegetales: estructura y actividad antioxidante. *Alimentación, Nutrición y Salud*, Vol 9 (2), 31-38 pp.
- Ruales Jenny, V. C.-E. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111, 816–823 pp.
- Rufino, M. d., Alves, R., Brito, E., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., & Mancini-Filho, J. (2012). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry* (121), 996-1002 pp.

Salvatierra, S. (2011). *Influencia de la proporción de fruta en el color, composición fenólica y actividad antioxidante de vinos de mora y manzana de Ecuador*. Pamplona - España: Máster en Tecnología y Calidad en las Industrias Agroalimentarias, Universidad Pública de Navarra.

Sierra, M. (2012). Tipos mas usuales de investigación. *Universidad Autónoma de Estado de Hidalgo* , 12 pp.

Sze, Y. L., & Oey, I. (2012). Effects of processing on anthocyanins, carotenoids and vitamin C in summer fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 48, 1577-1587 pp.

Toledo, A. (2010). *Determinación del valor nutritivo y funcional de tres clones seleccionados de Arazá (Eugenia Stipitata) y seis de Borojó (Borojoa Patinoi), evaluación del proceso para la obtención de pulpas pasteurizadas y congeladas*. Quito-Ecuador: Proyecto previo a la obtención del Título de Ingeniero Agroindustrial.

Vasco, C., Ruales, J., & Afaf, K. E. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111, 816–823 pp.

Zuleta, A., Esteve, M., & Frígola, A. (2009). ORAC y TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 114, 310-316 pp.

ANEXO A

MÉTODOS UTILIZADOS PARA LOS ANÁLISIS

Anexo A – 1.DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES

Principio

Los polifenoles son comúnmente determinados usando el reactivo de Folin & Ciocalteu's que a su vez interactúa con otras diferentes sustancias, pudiendo reducirá las no fenólicas y llevando a una sobrestimación del contenido de polifenoles. Se ha desarrollado un método modificado de Folin & Ciocalteu's para determinar específicamente el contenidos de polifenoles totales y vitamina C. Para esto se utiliza una extracción en fase sólida (cartuchos Oasis Balance Hidrofílico-Lipofílico BHL) para eliminar las interferencias solubles en agua incluyendo la vitamina C. Se realiza la corrección colorimétrica restando las sustancias que interfieren incluida la vitamina C. El contenido de vitamina C se determina sometiendo a calentamiento al extracto acuoso y deduciendo su concentración por método colorimétrico.

Equipo y materiales

- Espectrofotómetro
- Balanza analítica
- Placa agitadora
- Papel filtro cualitativo
- Balones aforados
- Pipetas volumétricas
- Probetas
- Viales con tapa
- Vasos de precipitación
- Cronómetro
- Agitadores magnéticos
- Cartuchos OASIS
- Termómetro

Reactivos

Acetona 70:30 (v/v): Medir 70 ml de acetona CH_3COCH_3 grado p.a. PM 58,08 g/mol, $\geq 99,8\%$, $\delta=0,79$ g/ml y mezclar con 30 ml de agua destilada.

Metanol puro: grado p.a. CH_3OH , PM 32,04 g/mol, pureza 99,90 %.

Solución de carbonato de sodio 75 g/l: Pesar 75 g de carbonato de sodio Na_2CO_3 , pureza $\geq 99,9\%$, PM 105,99 g/mol-g, disolver con un poco de agua destilada caliente y aforar a 1000 ml.

Reactivo de Folin-Ciocalteu's: Tomar 1 ml del reactivo de Folin, adicionar 9 ml de agua destilada, dilución 1/10.

Solución estándar de ácido gálico de 500 ppm: Pesar 0,0564 g de ácido gálico monohidratado ($(HO)_3C_6H_2CO_2H \cdot H_2O$, 98 %, disolver y aforar a 100 ml con agua destilada. Preparar una curva de 0-500 ppm, tomar 50 μ l de cada estándar, adicionar 450 μ l, (volumen final 500 μ l) y proceder con el método.

Solución estándar de ácido L(+)-ascórbico de 1000 ppm: Pesar 0,1003 g de ácido L(+)-ascórbico p.a. $C_6H_8O_6$ 99,7 % disolver y aforar a 100 ml con agua destilada. Preparar una curva de 0-1000 ppm, tomar 500 μ l de cada estándar y proceder con el método.

Procedimiento

- Pesar entre 0,3 g a un 1 g de muestra liofilizada, en viales con tapa.
- Adicionar 10 ml de la mezcla acetona/agua.
- Agitar por 45 minutos en una placa agitadora.
- Centrifugar por 10 min a 3500 rpm y/o filtrar a través de papel filtro.
- Recoger el filtrado en viales con tapa (*extracto bruto y se obtiene las fracciones A y B*).

Determinación de los componentes solubles totales en agua (Fracción A)

- Tomar 25 μ l, 50 μ l ó 75 μ l del extracto bruto.
- Adicionar 475 μ l, 450 μ l ó 425 μ l de metanol.
- Medir utilizando el método de Folin.

Separación de polifenoles y compuestos solubles en agua (Fracción B)

- Tomar 500 μ l del extracto bruto.
- Adicionar 3,5 ml de agua.
- Colocar 2 ml de esta solución en un cartucho OASIS previamente acondicionado (3 ml de metanol + 2 veces con 3 ml de agua).
- Lavar por 2 veces con 2 ml de agua.
- Tomar 500 μ l del extracto lavado (Fracción C).
- Medir utilizando el método de Folin.

NOTA: Después de cada análisis lavar los cartuchos OASIS con: 3 ml de metanol puro por 4 veces. Lavar por 2 veces con 2 ml de agua destilada.

Método de Folin

- Adicionar 2,5 ml del reactivo de Folin-Ciocalteu (diluido en 1/10 con agua destilada).
- Dejar a temperatura ambiente por dos minutos.
- Adicionar 2 ml de carbonato de sodio, agitar e incubar inmediatamente a 50° C por 15 minutos exactos. Enfriar los tubos rápidamente en agua a 4° C.
- Leer la absorbancia inmediatamente a 760 nm de las muestras y de la curva de calibración con el ácido gálico y ascórbico. Realizar las mediciones por duplicado.

Cálculos

Polifenoles Totales (mg ácido gálico/100 g muestra) = A-B

$$A = Lra * \frac{Vt}{Pm} * 100$$

$$B = Lrb * \frac{Vt}{Pm} * 100$$

Donde:

LR_a = Concentración en mg/l de ácido gálico de la Fracción A

LR_b = Concentración en mg/l de ácido gálico de la Fracción B

Vt = Volumen total (ml)

Pm = Peso muestra (g)

FD = Factor de dilución Fracción B ((4/0,5)*(6/2))

B = ABS a 760 nm de la Fracción B

Referencia

Gerogé, S., Brat, P., Alter, P., & Amiot, M. 2005. Rapid determination of polyphenols and vitamina C in plant-derived products. Journal of Agricultural and Food Chemistry (53), 1370-1373 pp.

Anexo A – 2.DETERMINACIÓN DE VITAMINA C

Principio

El ácido ascórbico reduce el ácido molibdofosfórico amarillo a azul de fosfomolibdeno, cuya concentración se determina por reflectometría, que es una técnica basada en la interacción entre luz y materia, la luz es una forma de energía que se expresa en parámetros de onda, por la óptica geométrica se detectó la reflexión.

Equipo y material

- Reflectómetro RQ flex 16970
- Licuadora
- Reflectoquant 1.16981, Test Ácido Ascórbico (tubo conteniendo 50 tirillas analíticas y una tira de código de barras), (Merck, de 25 - 450mg/l)
- Vasos de precipitación, balones aforados

Procedimiento

- Pesar 30 g de muestra, licuar y llevar a un volumen conocido (200 ml) con agua destilada.
- Calibrar el equipo, con la curva de calibración que viene con las tirillas.
- Tomar una tirilla analítica del tubo y cerrar inmediatamente.
- Presionar la tecla STAR del reflectómetro e introducir de forma absolutamente simultánea la tirilla analítica con ambas zonas de reacción durante aproximadamente 2 segundos en la muestra. Eliminar el exceso de líquido de la tirilla, sacudiéndola manualmente.
- Cuando suene la señal acústica (5 segundos antes de transcurrir el tiempo de reacción) la tirilla ya deber estar introducida con la zona de reacción en dirección a la pantalla hasta el tope en el adaptador de tirillas
- Después de transcurrido el tiempo de reacción, leer en la pantalla el valor de medición en mg/l de ácido ascórbico. El valor se almacena automáticamente.

Cálculos

Donde:

$$\text{Vita min } aC(\text{mg} / 100\text{g}.\text{ac.ascórbico}) = \frac{L * V}{10 * Pm}$$

L = Lectura (mg/l)

V = Volumen final (ml)

Pm = Peso de la muestra (g)

Referencias

Merck. (2003). Test de ácido ascórbico, método reflectométrico con tiras de ensayo 25/450 mg/L. . Darmstadt, AL.

ANEXO A – 3.DETERMINACIÓN DE CAROTENOIDES TOTALES

Principio

Los carotenoides totales se determinan espectrofotométricamente usando una curva de calibración de β -caroteno. Las concentraciones calculadas por este método se reportan en ($\mu\text{g/g}$) del total de carotenoides en frutas.

Equipo y materiales

- Espectrofotómetro UV-VIS
- Balanza analítica
- Placa agitadora
- Agitadores magnéticos
- Erlenmeyers
- Embudos de separación
- Cronometro
- Probetas

Reactivos

- Solución de extracción: 50% Hexano, 25% Etanol, 25% Acetona y 0,1% de BHT (v/v).
- Cloruro de calcio

Procedimiento

- Pesar de 0,6-1 g de muestra liofilizada en un Erlenmeyer protegido de la luz.
- Adicionar 50 ml de la solución de extracción
- Añadir 5 g de CaCl_2 y agitar la mezcla por 20 min a 4 °C
- Agregar 15 ml de agua y agitar por 10 min a 4 °C
- Colocar la mezcla en un embudo de separación
- Separar la fase acuosa y la fase orgánica
- La fase orgánica aforar a 50 ml con hexano
- Medir la absorbancia a 450 nm

NOTA: Para evitar la degradación de los carotenoides se debe trabajar en un cuarto oscuro y protegido de la luz.

Cálculos

$$\text{Carotenoides}(\mu\text{g} / \text{g}) = \frac{A * V(\text{ml}) * 10^{-3} (\text{L} / \text{ml}) * (536.89(\text{g} / \text{mol} - \text{g}) * 10^{-6} (\mu\text{g} / \text{g}))}{\varepsilon(\text{L} / \text{mol} * \text{cm}) * b(\text{cm}) * P(\text{g})}$$

Donde:

- A** = Absorbancia
 ε = Coeficiente de extinción molar
b = Ancho de la celda

En la siguiente tabla se muestra algunos coeficientes de extinción:

Molecular weights, extinction coefficients and wavelength of maximum absorption for determination of phytochemical compounds.

Bioactive compounds	Molecular weight (g mol ⁻¹)	Extinction coefficient (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)	Wavelength (nm)
Cyanidin-3-glucoside*	449.2	26,900	510
Cyanidin-3-rutinoside*	595.2	28,800	541
β -Carotene**	537	2560	450
β -Cryptoxanthin**	553	2460	451
α -Carotene**	537	2800	444
Lycopene**	537	3450	472
Lutein**	569	2550	445

Fuente: Sze y Oey., 2012.

Referencia

Sze Ying Leong, & Oey Indrawati. 2012. Effects of processing on anthocyanins, carotenoids and vitamin C in summer fruits and vegetables. Food Chemistry. Vol. 133: 1577–1587pp.

Dhuique-Mayer, C., Caris-Veyrat, C., Ollitrault, P., Curk, F., & Amiot, M. 2005. Varietal and Interspecific influence on Micronutrient Contents in Citrus from the Mediterranean Area. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 53. (6). 214 p.

ANEXO A – 4.DETERMINACIÓN DE ANTOCIANINAS TOTALES

Principio

Las antocianinas sufren transformaciones estructurales con cambios en el pH. A pH 1,0 las antocianinas existen en una alta coloración de oxonium en su forma flavonoide y a pH 4,5 ellas están predominantemente en la forma de carbinol menos coloreado.

Equipo y material

- Espectrofotómetro UV-VIS
- Balanza analítica
- pH-metro
- Placa agitadora
- Centrifuga
- Papel filtro cualitativo
- Pipetas volumétricas
- Vasos de precipitación
- Probetas
- Balones aforados
- Cronómetro
- Agitadores magnéticos

Reactivos

Solución A, Cloruro de Potasio 0,2 N: Pesar 14,9120 g de cloruro de potasio (KCl), grado p.a. pureza 99,5%, PM 74,56 g/mol-g, disolver y aforar a un litro con agua destilada.

Solución B, Acido clorhídrico HCl 0,2 N: Tomar 16,35 ml de ácido clorhídrico HCl; 36,5 a 38 %, 1,19 g/ml) de pureza, y aforar a un litro con agua destilada.

Solución Buffer pH 1.0: Medir 125 ml de la solución A y adicionar 375 ml de la Solución B, medir el pH y aforar a 500 ml.

Solución C, Acetato de Sodio 1 M: Pesar 135,96 g de acetato de sodio anhidro, disolver y aforar a un litro con agua destilada.

Solución D, Acido clorhídrico HCl 1,0 N: Tomar 81,76 ml de ácido clorhídrico HCl; 36.5 a 38 %, 1.19 g/ml) de pureza, y aforar a un litro con agua destilada.

Solución Buffer pH 4,5: Medir 400 ml de la solución C, adicionar 240 ml de la solución D, y 360 ml de agua destilada ir controlando el pH y aforar a 1 L.

Procedimiento

- Pesar 0,25 g. de muestra liofilizada, en vasos de precipitación.
- Adicionar 10 ml de buffer. - Agitar por una hora sobre una placa agitadora.
- Centrifugar por 30 min a 4000 rpm. Filtrar a través de papel filtro.
- Medir la absorbancia, frente al buffer.
- Realizar el mismo procedimiento con cada buffer.

Cálculos

$$A = [(A_1 - A_2) - (A_3 - A_4)]$$

$$C = \frac{A}{\epsilon * b} * \frac{Vt}{Pm} * PM * 100$$

Donde:

C = Concentración de antocianinas (mg/100g)

A = Diferencia de la absorbancia entre pH 1,0 y pH 4,5

A₁ = Absorbancia a 510 nm a pH 1,0

A₂ = Absorbancia a 700 nm a pH 1,0

A₃ = Absorbancia a 510 nm a pH 4,5

A₄ = Absorbancia a 700 nm a pH 4,5

Vt = Volumen total (ml)

Pm = Peso de la muestra (g)

PM = Peso molecular de cyanidin-3-glucoside chloride (484.82 g/mol)

ε = Coeficiente de absortividad de cyanidin-3-glucoside chloride (24825 L mol⁻¹cm⁻¹)

b = Ancho de la celda (1 cm)

Referencia

Sze Ying Leong, & Oey Indrawati. 2012. Effects of processing on anthocyanins, carotenoids and vitamin C in summer fruits and vegetables. Food Chemistry. Vol. 133: 1577–1587pp.

Rapisarda, P; Fanella, F; & Maccarone, E. 2000. Reliability of Analytical Methods for Determining Anthocyanina in Blood Orange Juices. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 48, 2249-2252 pp.

ANEXO A – 5.DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES

Principio

Los flavonoides constituyen el grupo de compuestos polifenólicos más diversos y ampliamente distribuidos en las plantas. Su esqueleto básico de difenilpropano ($C_6-C_3-C_6$) consta de dos grupos fenilo (A y B) unidos por un puente de tres carbonos que forma un anillo oxigenado (anillo C).

Los flavonoides se cuantifican al realizar un extracto de cada muestra con isobutanol al 80% y añadir cloruro de aluminio al 2%.

Como reactivo de control se utiliza la quercetina ($C_{15}H_{10}O_7$)

Equipos y Materiales

- Embudos de vidrio
- Balones volumétricos
- Porta embudos
- Erlenmeyers
- Papel filtro Whatman 4
- Agitadores magnéticos
- Frascos de vidrio con tapa
- Vasos de precipitación
- Tubos de ensayo
- Tubos de centrifuga
- Celdas para espectrofotómetro
- Micropipetas automáticas
- Balanza de precisión
- Plancha de agitación magnética
- Centrífuga
- Espectrofotómetro HACH

Reactivos

Metanol al 80%: Transferir cuantitativamente 800 ml de metanol en un balón volumétrico de 1000 ml, aforar con agua bidestilada.

Cloruro de aluminio al 10 %: Pesar 1.8214 g de $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ y aforar a 10 ml con agua destilada.

Acetato de potasio 1M: Pesar 1 g de CH₃COOK y aforar a 10 ml con agua destilada.

Procedimiento

Extracción de la muestra

- Pesar de 0.1 a 1 g de muestra liofilizada.
- Disolver con 10 ml de metanol al 80%.
- Agitar por 10 min a 45 °C a 150 rpm.
- Centrifugar a 3000 rpm por 10 min.
- El sobrenadante es recolectado en un balón de 25 ml.
- El precipitado se extrae con 5 ml de metanol al 80% por dos veces (repetir los pasos anteriores).
- Los sobrenadantes fueron combinados y aforados a 25 ml con metanol al 80%.
- Proceder con el método.

Método

- Tomar una alícuota de cada una de las muestras 0.5 ml.
- Agregar 1.5 ml de metanol al 95%, 0.1 ml de cloruro de aluminio al 10%, 0.1 ml de acetato de potasio 1M y 2.8 ml de agua destilada.
- Incubar a temperatura ambiente por 30 min (obscuridad).
- Medir a 415 nm.

Cálculos

El contenido de flavonoides se determina por medio de la ecuación:

$$Conc (\mu g/ml) = \frac{A * intersepto}{pendiente}$$

$$Flavonoides (\mu g \text{ quercetina}/100 \text{ g muestra liofilizada}) = Conc * Ve * FD * \frac{1}{Pm} * 100$$

Donde:

A= Absorbancia

Pm= Peso muestra liofilizada (g)

Ve= Volumen del extracto (ml)

FD = Factor de dilución (10)

Conc = Concentración ($\mu\text{g/ml}$)

Referencia

Huang Y., Chang Y., Shao Y., 2006. Effects of genotype and treatment on the antioxidant activity of sweet potato in Taiwan, Food Chemistry, 98 (3), 529 p.

ANEXO A – 6.DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO ORAC

Principio

El método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) consiste en la medición de la disminución de la fluorescencia de una muestra como resultado de la pérdida de su conformación cuando ésta sufre daño oxidativo causado por una fuente de radicales peroxilo (ROO). La capacidad antioxidante de una fruta se mide siguiendo la cinética de una reacción por medio de espectrofotometría de fluorescencia. Este método utiliza una disolución de trolox como solución patrón de antioxidante y como fuente de radicales libres utiliza una sustancia llamada AAPH. Conforme aumenta la concentración del antioxidante trolox, la disminución de la intensidad de fluorescencia ocurre a mayor tiempo, lo que demuestra que el trolox cumple con su función, proteger a la fluoresceína.

Como el área bajo la curva de la caída de fluoresceína es proporcional a la concentración de trolox o sustancia antioxidante, se construye otra curva de área bajo la curva del espectro versus concentración del trolox y se interpola la concentración de la muestra incógnita. El resultado se expresa en micromol de trolox equivalente por gramo de muestra liofilizada ($\mu\text{mol Trolox Equivalente/ g muestra liofilizada}$).

Equipos y materiales

- Balanza analítica
- Baño ultrasónico
- Espectrofluorómetro Biotek
- Pipeteador automático
- Puntas para pipeteador automático
- Papel parafilm, papel aluminio y papel toalla
- Balones de aforo
- Beaker
- Papel Whatman 41
- Botellas ámbar
- Probetas
- Gradillas
- Tubos Eppendorf

Reactivos

Fluoresceína de sodio $C_{20}H_{10}O_5Na_2$

TROLOX: 6-hidroxy -2,5,7,8 - tetramethylcroman-2-carboxylic acid

AAPH: 2,2- azodis (2-amidino propone) dihidrochloride

2,2- azodis (2- methy/propiamidine) dihidrochloride

Fosfato de sodio monobásico NaH_2PO_4 grado reactivo

Fosfato de sodio dibásico $Na_2H_2PO_4 \cdot H_2O$ grado reactivo

Preparación de disoluciones

Solución amortiguadora de fosfatos 75 mmol/L (pH = 7,4).

Solución A (0,2 mol/L): pesar 1,035g de fosfato de sodio monobásico y llevar a 100 ml con agua destilada en un balón aforado.

Solución B (0,02 mol/L): pesar 5,35g de fosfato de sodio dibásico y llevar a 500 ml con agua destilada en un balón de aforo.

Mezclar 95 ml de la solución A con 405 ml de solución B, llevar a 900 ml con agua destilada en un beaker y medir el pH. Ajustar el pH de ser necesario con soluciones 0,1 mol/L de NaOH o HCl hasta alcanzar un valor de pH = 7,4 y llevar a 1L en un balón aforado.

Envasar la dilución en una botella y almacenar a 4°C por un período máximo de 1 mes.

Rotular la botella con las fechas de llenado y expedición.

Solución de Trolox

Solución madre (400 μ mol/L): pesar 0,01g de Trolox (PM 250,32 g/mol), adicionar de 15 a 20 gotas de etanol al 95% para disolver todos los cristales y llevar a 100ml con la solución amortiguadora en un balón aforado ámbar. La preparación y manipulación del Trolox se realiza en oscuridad o con la ayuda de luz amarilla para evitar su degradación. Envasar la dilución en una botella ámbar.

NOTA: Solo preparar para usar el día del análisis y luego descartarlo.

Soluciones de trabajo para la curva de caibración (4-32 μ mol/L): preparar las soluciones patrón como se indica en el cuadro 9 y diluir con la solución amortiguadora en tubos Eppendorf de 1,5 mL.

Cuadro 9. Diluciones correspondientes para la preparación de soluciones patrón de TROLOX.

Patrón	Alícuota de solución de trabajo de Trolox (μ L)	Solución amortiguadora (μ L)	Concentración (μ mol/L)
Blanco	0	1000	0

T1	10	990	4
T2	20	980	8
T3	40	960	16
T4	60	940	24
T5	80	920	32

Soluciones de Fluoresceína 0.8185×10^{-5} mmol/L

Solución madre (0,8187 mmol/L): pesar 0,0334 g de fluoresceína (PM 376,3 g/mol), agregue 25 gotas de etanol al 95% para disolver la fluoresceína y aforar a 100 ml con solución amortiguadora en un balón aforado ámbar. Almacenar la solución en una botella ámbar a 4°C por un período máximo de 1 mes.

Nota: La solución se prepara en obscuridad o bajo luz amarilla.

Solución intermedia (8,187 μ mol/L): tomar una alícuota de 100 μ L de la solución madre de fluoresceína y aforar a 10 ml con solución amortiguadora en un balón aforado ámbar. Trasvasar a la botella ámbar del espectrofluorómetro. La solución se prepara en oscuridad a bajo luz amarilla. Solo prepara para el día del análisis luego descartarlo.

Solución de trabajo (81,87 nmol/L): tomar una alícuota de 500 μ L de la solución intermedia de fluoresceína y aforar a 25 ml con solución amortiguadora en un balón aforado ámbar. Trasvasar a la botella ámbar del espectrofluorómetro. La solución se prepara en oscuridad a bajo luz amarilla. Solo prepara para el día del análisis luego descartarlo.

Para confirmar la fluorescencia de la solución de trabajo de fluoresceína se coloca 50 μ l de solución buffer en el pocillo A1 de la placa que se utilizará en el ensayo. Agregar en el mismo pocillo 150 μ l de solución de trabajo de fluoresceína y llevar inmediatamente a realizar la lectura en el espectrofluorómetro. El valor debe estar en un rango de 53000 a 55000. Si es menor, se debe preparar nuevamente la solución intermedia y la de trabajo de fluoresceína y si los valores siguen dando por debajo del rango preparar una nueva solución madre de fluoresceína.

Solución de radical AAPH

Pesar 0,393g de AAPH (PM 271,17 g/mol) directamente en un beaker de 25 ml y agregar 10 ml de solución amortiguadora con el pipeteador. La preparación y manipulación de la solución de AAPH se realiza en oscuridad o con la ayuda de luz amarilla para evitar su degradación.

Proteger de la luz con papel aluminio y colocar en un baño ultrasónico por 5 min o hasta que se disuelva completamente. Trasvasar a la botella ámbar del

espectrofluorómetro. Mantener la botella en el refrigerador hasta el momento del análisis.

Nota: Solo prepara para el día del análisis luego descartarlo.

Solución extractora: (acetona al 70%)

Mezclar acetona / agua ultrapura en proporción 70/30, utilizando una probeta. Se prepara en el día.

Procedimiento

PREPARACIÓN DE MUESTRAS

- 1.- Pesar en un frasco ámbar de 30 ml de 0,5 a 1,0 g de muestra liofilizada, por triplicado. El ensayo debe realizarse a oscuridad posible o bajo luz amarilla, nunca bajo luz natural o artificial blanca.
- 2.- Agregar a cada frasco ámbar 15 ml de acetona al 70%, coloque una pastilla magnética, tape el frasco
- 3.- Agitar durante 10 min en el agitador magnético y luego en el baño ultrasónico durante 10min. Agitar 10 min más en el agitador magnético.
- 4.- Dejar 5 min en reposo y trasvasar el sobrenadante con ayuda de una varrilla agitadora a un tubo Falcon de 15 ml, luego centrifugar a 3700 rpm por 5 minutos.
- 5.- Repetir los puntos 2, 3, 4, una vez más. Si se trata de muestra liofilizada, hacer la extracción inicial con 10 ml de acetona 70% y continúe con los pasos 2 a 4. Repetir 2 veces más los puntos 2 a 4. Realizar una tercera extracción del sólido obtenido en la segunda extracción con 10 ml de la solución extractora y agitar 10 min en el agitador magnético. Centrifugar a 3700 rpm por 5 minutos.
- 6.- Recolectar los sobrenadantes de cada extracción en un balón de 250 ml cubierto con papel aluminio.
- 7.- Colocar el balón de 250 ml en el rotavapor (en un baño de agua a 40°C) y eliminar la acetona (partiendo de 40 ml de extracto, como la acetona tiene una concentración de 70%, al evaporar la acetona se espera un volumen final de 12 ml).
- 8.- Quitar el balón del rotavapor y trasvasar cuantitativamente el líquido a una jeringa de 10ml con un filtro de 0,45 µm acoplado en el extremo de la jeringa.
- 9.- Colocar el émbolo de la jeringa con cuidado, presionar el émbolo y recoger el filtrado en un balón aforado de 25 ml (V_{extrac}).
- 10.- Lavar el balón con 5 ml de agua ultrapura y trasvasar el lavado a la jeringa. Filtrar y luego, aforar el balón con agua ultrapura.
- 11.- Trasvasar el filtrado (extracto acuoso) a una botella ámbar y guardar en el refrigerador hasta hacer las diluciones. Además el sustrato se puede utilizar para el análisis de polifenoles por HPLC y polifenoles por el método de Folin.

12.- El extracto acuoso dura hasta 3 días en congelación protegido de la luz. Después de ese período, debe descartarse.

Dilución de los extractos de las muestras

1.- Preparar una dilución 1/10 de los extractos iniciales de las muestras (100 µL extracto + 900 µL solución amortiguadora) con solución amortiguadora de fosfatos en un tubo Eppendorf. A partir de esta solución preparar otras diluciones en tubo Eppendorf como se indica en el Cuadro 10. Las diluciones se preparan el día correspondiente y al final del ensayo deben descartarse.

Cuadro 10. Diluciones correspondientes para la preparación de los extractos de las muestras.

Dilución	Alícuota del extracto de la muestra diluida 1//10 (µL)	Solución amortiguadora (µL)	Volumen total (µL)	Factor de dilución total
1	10	990	1000	1000
2	10	890	900	900
3	10	790	800	800
4	10	690	700	700
5	10	590	600	600
6	20	980	1000	500
7	20	780	800	400
8	30	870	900	300
9	50	950	1000	200
10	100	900	1000	100
11	100	400	500	50
12	100	100	200	20

Análisis preliminar o estudio de diluciones (permite encontrar la mejor dilución para las muestras).

1.- Preparar la placa con 215 µL de agua ultrapura en los pocillos de los extremos y 25 µL de cada una de las soluciones patrón como se indica en el Cuadro 12.

Cuadro 12. Preparación de placa de lectura para el método ORAC

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Agua	agua	agua	agua	Agua	Agua	agua	agua	agua	agua	agua	agua

B	Agua	T5									T5	agua
C	Agua	T4									T4	agua
D	Agua	T3									T3	agua
E	Agua	T2									T2	agua
F	Agua	T1									T1	agua
G	Agua	Blanco									Blanco	agua
H	Agua	agua	agua	agua	Agua	Agua	agua	agua	agua	agua	agua	agua

2.- Elegir 6 diluciones de las preparadas anteriormente para cada muestra. Pueden ser consecutivas o alternadas para cubrir un mayor espectro.

3.- Colocar 25 µL de las diluciones escogidas de las muestras en los pozos. El acomodo de las mismas en la placa se describe en el Cuadro 13.

Cuadro 13. Distribución de muestras y diluciones de cada una para el estudio de diluciones.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	agua	agua	agua	Agua	Agua	agua	Agua	agua	agua	agua	agua	Agua
B	agua	T5	M1D 1	M2D 1	M3D 1	M4D 1	M5D 1	M6D 1	M7D 1	M8D 1	T5	Agua
C	agua	T4	M1D 2	M2D 2	M3D 2	M4D 2	M5D 2	M6D 2	M7D 2	M8D 2	T4	Agua
D	agua	T3	M1D 3	M2D 3	M3D 3	M4D 3	M5D 3	M6D 3	M7D 3	M8D 3	T3	Agua
E	agua	T2	M1D 4	M2D 4	M3D 4	M4D 4	M5D 4	M6D 4	M7D 4	M8D 4	T2	Agua
F	agua	T1	M1D 5	M2D 5	M3D 5	M4D 5	M5D 5	M6D 5	M7D 5	M8D 5	T1	Agua
G	agua	Blanco	M1D 6	M2D 6	M3D 6	M4D 6	M5D 6	M6D 6	M7D 6	M8D 6	Blanco	Agua
H	agua	agua	agua	Agua	Agua	agua	Agua	agua	agua	agua	agua	Agua

Donde D= dilución, M= muestra
Y $D1 < D2 < D3 < D4 < D5 < D6$

- 4.- Colocar la placa en el soporte de placas del espectrofluorómetro e inicie el análisis.
- 5.- El equipo va agregar 150 μL de la fluoresceína automáticamente.
- 6.- El equipo espera 30 min para calentar y estabilizar la temperatura interna, después, agrega 25 μL de la solución de AAPH automáticamente. Luego agita la placa (15s) y mide la intensidad de fluorescencia cada minuto en cada pozo de la placa por 60 min.
- 7.- Cuando el análisis termina, se abre el compartimiento de la placa.
- 8.- Exportar los datos (AUC net) del software Gen5 a Excel y hacer la curva de concentración de Trolox en función de la AUC net (tomando el promedio de los dos valores para cada concentración).
- 9.- Elija la dilución adecuada para cada muestra. Esto se hace eligiendo la dilución cuya AUC net esté dentro del ámbito de AUC net de los patrones de trolox. Puede haber más de una dilución cuya AUC net cumpla con este equipo. Puede elegir cualquiera.

a) Determinación de la capacidad antioxidante

- 1.- Preparar la placa con 215 μL de agua ultrapura en los pocillos como se indica en el Cuadro 12.
- 2.- Colocar 25 μL de cada una de las soluciones patrón como se describe en el Cuadro 12.
- 3.- Colocar 25 μL de la dilución escogida para cada uno de los pozos.
- 4.- Colocar la placa en el soporte de placas del espectrofluorómetro e inicie el análisis.
- 5.- El equipo va agregar 150 μL de la fluoresceína automáticamente.
- 6.- El equipo espera 30 min para calentar y estabilizar la temperatura interna, después, agrega 25 μL de la solución de AAPH automáticamente. Luego agita la placa (15s) y mide la intensidad de fluoresceína cada minuto en cada pozo de la placa por 45 min.
- 7.- Cuando el análisis termina, se abre el compartimiento de la placa.
- 8.- Lavar la placa, retirar las botellas con las soluciones, lavar los inyectores por cuatro veces con 5000 μl de agua ultrapura cada inyector, apagar la lámpara y el sistema de calentamiento interno del equipo.

NOTA: Al inicio de cada ensayo proceder con la limpieza profunda de los inyectores usando una solución al 70% de etanol y agua ultrapura como se indica en las Instrucciones para el manejo del espectrofluorómetro.

b) Referencia

CITA. 2010. Determinación de la actividad antioxidante. Método ORAC, número AQCITA-M037 con espectrofluorómetro Biotek. Costa Rica. 10 p.

Adaptado en el Laboratorio de Servicios Analíticos e Investigación en Alimentos del Departamento de Nutrición y Calidad.

ANEXO B

FOTOGRAFÍAS

Anexo B -1.Muestreo de frutas estudiadas

Muestreo de Uvilla



Muestreo de Mora



Muestreo de Tomate de árbol



Muestreo de Naranjilla



Muestreo de Ciruela



ANEXO B -2. Procesamiento de las frutas

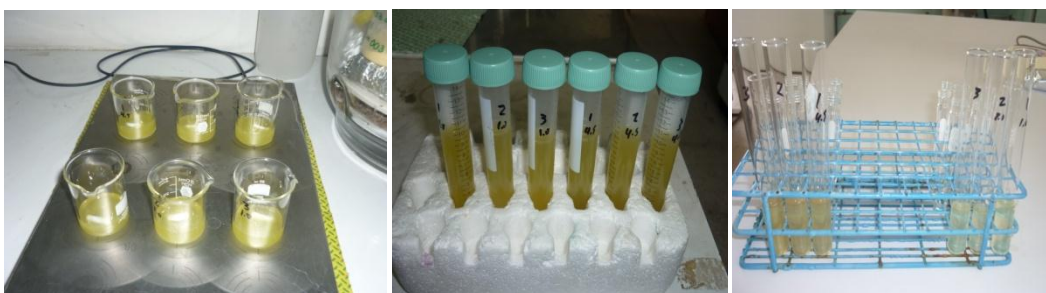
Este proceso se realiza para cada una de las frutas.





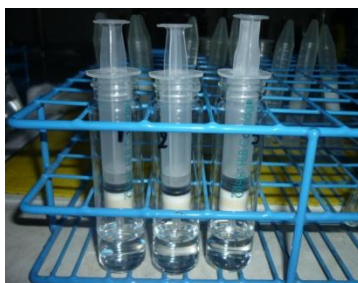
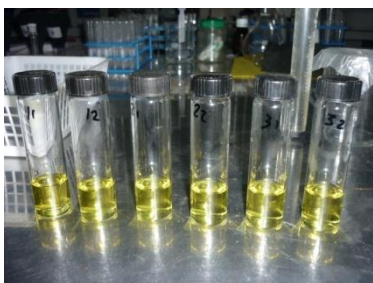
ANEXO B -3.Determinación de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante

Análisis de antocianinas





Análisis de polifenoles



Análisis de flavonoides



Análisis de carotenoides



Análisis de vitamina C



Análisis de capacidad antioxidante ORAC

