



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA

“Calidad, Pertinencia y Calidez”

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

TRABAJO DE TITULACIÓN

(Previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos)

TEMA:

DISEÑO Y EVALUACIÓN PRELIMINAR DE UNA MEZCLA ÓPTIMA A BASE DE EXTRACTOS DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*) CON MORINGA (*Moringa oleífera*) PARA LA OBTENCIÓN DE UNA BEBIDA FUNCIONAL.

AUTORA:

ANGIE LISSETH LÓPEZ DÍAZ

TUTORA:

Dra. ANA PAOLA ECHAVARRÍA VÉLEZ. PhD

MACHALA – EL ORO – ECUADOR

2015

CERTIFICACIÓN

Dra. Ana Paola Echavarría Vélez, PhD, Prometeo de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud, tutor del presente trabajo de titulación con tema “**DISEÑO Y EVALUACIÓN PRELIMINAR DE UNA MEZCLA ÓPTIMA A BASE DE EXTRACTOS DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*) CON MORINGA (*Moringa oleífera*) PARA LA OBTENCIÓN DE UNA BEBIDA FUNCIONAL**”, desarrollado por **ANGIE LISSETH LÓPEZ DÍAZ**; certifico que, el presente trabajo investigativo fue desarrollado por el autor en sistemática y de acuerdo con las normas establecidas para proyectos de investigación, ya que revisando su contenido y forma, autorizo su presentación.

.....
Dra. Ana Paola Echavarría Vélez, PhD
Tutora del Trabajo de Titulación

RESPONSABILIDAD

Yo, **ANGIE LISSETH LÓPEZ DÍAZ**, autora del siguiente Trabajo de Titulación “**DISEÑO Y EVALUACIÓN PRELIMINAR DE UNA MEZCLA ÓPTIMA A BASE DE EXTRACTOS DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*) CON MORINGA (*Moringa oleifera*) PARA LA OBTENCIÓN DE UNA BEBIDA FUNCIONAL**”, declaro que la investigación, resultados y conclusiones expuestas en el presente trabajo, son de mi absoluta responsabilidad.

.....
Angie Lisseth López Díaz
Autora

CESIÓN DE DERECHO DE AUTORÍA

Yo, **ANGIE LISSETH LÓPEZ DÍAZ**, con cédula de identidad **070481180-1**, egresada de la escuela de Ingeniería en Alimentos, de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud, de la Universidad Técnica de Machala, responsable del presente trabajo de titulación con tema **“DISEÑO Y EVALUACIÓN PRELIMINAR DE UNA MEZCLA ÓPTIMA A BASE DE EXTRACTOS DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*) CON MORINGA (*Moringa oleífera*) PARA LA OBTENCIÓN DE UNA BEBIDA FUNCIONAL”**, durante los meses de Enero del 2015 a Junio del 2015, certifico que la responsabilidad de la investigación, resultados y conclusiones del presente trabajo pertenecen exclusivamente a mi autoría, una vez que ha sido aprobado por mi tribunal de sustentación del trabajo de titulación autorizando su presentación.

Deslindo a la Universidad Técnica de Machala de cualquier delito de plagio y cedo mis derechos de autor a la Universidad Técnica de Machala para que ella proceda a darle el uso que crea conveniente.

.....
Angie Lisseth López Díaz
Autora

DEDICATORIA

A Dios, por darme la sabiduría, conocimiento y revelación necesaria para culminar con éxitos mis estudios de pre-grado, por estar siempre conmigo en los momentos más difíciles y sobre todo de darme la oportunidad de continuar y permitirme llegar hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mi madre Floripes López, mujer independiente, mi amiga, mi compañera, mi fuerza, mi todo, a ti, madre mía, simplemente esto no hubiera sido posible sin tu esfuerzo, valores y hábitos que has inculcado en mí, siempre apoyándome para que pueda culminar mis estudios de pre-grado. Espero que Dios nos permita seguir juntas para seguir disfrutando de nuestros logros porque esto es solo el principio.

A mi hermana, Andrea Pineda, quien siempre me apoya en todas y aquellas circunstancias de la vida, espero siempre contar con su valioso e incondicional apoyo en todo lo que sea necesario.

A mis tíos y mi abuela, que con su confianza y cariño me ayudaron aconsejándome en los momentos más oportunos de mi carrera universitaria.

Angie Lisseth López Díaz

AGRADECIMIENTO

Este trabajo, merece expresar un profundo y sincero agradecimiento para mis docentes, quienes han impartido sus conocimientos con experiencias y motivación especialmente para la Ing. Lisbeth Matute, quien distinguidamente se hace acreedora de un cariño especial para mí, y a mi querida tutora, la Dra. Ana Paola Echavarría PhD., quien supo creer en mi capacidad para la realización de mi trabajo de titulación, su manera de trabajar y su persistencia supieron orientarme sin interés alguno, para culminar con éxito esta investigación. De igual manera a la Dra. Carmita Jaramillo, profesional que con dedicación ha sabido orientarnos durante la realización del presente trabajo de titulación.

Angie Lisseth López Díaz

ÍNDICE GENERAL

CERTIFICACIÓN.....	I
RESPONSABILIDAD	II
CESIÓN DE DERECHO DE AUTORÍA	III
DEDICATORIA.....	IV
AGRADECIMIENTO	V
ÍNDICE GENERAL	6
ÍNDICE DE TABLAS.....	10
ÍNDICE DE FIGURAS	12
RESUMEN	14
INTRODUCCIÓN.....	16
DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.....	18
JUSTIFICACIÓN.....	19
OBJETIVOS	20
1. MARCO TEÓRICO	21
1.1. MARACUYÁ (<i>Passiflora edulis</i>)	21
1.1.1. Características del fruto Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)	22
1.1.2. Usos	23
1.1.3. Composición macronutricional y micronutricional de la fruta y jugo.....	23
1.1.3.1 Macronutrientes.....	23
1.1.3.2. Micronutrientes	25
1.2. MORINGA (<i>Moringa oleífera</i>)	26
1.2.1. Propagación, suelo y clima.....	26
1.2.2. Características.....	27
1.2.3. Composición química.....	27
1.2.4. Usos	28
1.3. ALIMENTO FUNCIONAL	28
1.3.1. Desarrollo de un alimento funcional	29
1.4. CONOCIMIENTO BÁSICO DE LAS FUNCIONES ORGÁNICAS AFECTADAS.....	30

1.4.1. Función en el mantenimiento de la salud	30
1.4.2. Función en el desarrollo de enfermedades	31
1.4.3. Estrategias en la producción de alimentos funcionales	32
1.4.4. Técnicas analíticas para el diseño.....	32
1.4.5. Tipos de alimentos funcionales	33
1.4.6. Bebida funcional.....	34
1.5. COMPUESTOS BIOACTIVOS.....	34
1.5.1. Antioxidantes.....	34
1.5.1.1. Polifenoles y Flavonoides.....	35
1.6. RADICALES LIBRES	37
1.7. ENZIMAS.....	38
1.8. MECANISMO DE ACCIÓN DEL RADICAL DPPH (2-difenil-1-picril hidrazilo).....	38
2. METODOLOGÍA	40
2.1. DELIMITACIÓN	40
2.2. ENFOQUE DE LA INVESTIGACIÓN	40
2.3. DISEÑO EXPERIMENTAL	40
2.4. TIPO DE MUESTRA	41
2.5. DESCRIPCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	42
2.5.1. Localización de la Investigación.....	42
2.5.2. Selección de las muestras	43
2.5.3. Selección y procesamiento de las muestras.....	43
2.5.4. Preparación de extracto de Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>).....	44
2.5.5. Preparación de extracto de Moringa (<i>Moringa oleífera</i>).....	45
2.5.6. Preparación de mezclas.....	46
2.6.1. Materiales	47
2.6.1.1. Materiales de laboratorio.....	47
2.6.1.2. Reactivos	47
2.6.1.3. Equipos	48
2.6.1.4. Otros materiales.....	48
2.6.2. Protocolo general de la investigación.....	49
2.7. MÉTODOS	49
2.7.1. Composición proximal	49
a) Determinación de humedad.....	50

b)	Determinación de cenizas	50
c)	Determinación de proteínas por el método de Lowry	50
d)	Determinación de glucosa y fructosa	51
2.7.2	Análisis físico-químicos	51
a)	Determinación de pH.....	51
b)	Determinación de acidez titulable.	51
c)	Determinación de densidad	52
d)	Determinación de viscosidad.....	52
e)	Determinación de sólidos solubles	52
f)	Índice de refracción	52
g)	Parámetros de color por el modelo CIEL*a*b*	52
h)	Determinación del índice de madurez	53
2.7.3	Determinación de compuestos bioactivos	53
a)	Tamizaje fitoquímico.....	53
c)	Determinación de la capacidad antioxidante	55
2.8	Hipótesis general.....	56
a.	Hipótesis nula H_0	56
b.	Hipótesis alternativa H_1	56
2.9	Descripción de las variables.....	56
2.9.1	Variables independientes	56
2.9.2	Variables dependientes	56
2.10	Interpretación de datos y análisis estadístico	56
3	RESULTADOS Y DISCUSIONES	57
3.1.	Composición proximal.....	57
3.1.1.	Humedad y cenizas	57
3.1.2.	Proteínas	58
3.1.3.	Fructosa y Glucosa	61
3.2.	Análisis físico-químico	62
3.2.1.	pH, acidez y solidos solubles.....	62
3.2.2.	Índice Refracción, densidad y viscosidad.....	63
3.2.3.	Parámetros de color	64
3.2.4.	Índice de madurez (IM) de frutos del maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)	65
3.3.	Determinación de compuestos bioactivos.....	65
3.3.1.	Tamizaje fitoquímico.....	66

3.3.2. Cromatografía en capa fina.....	67
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	73
5. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	76

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición aproximada de la pulpa de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>). Valores reportados en g/100 mL de porción comestible.....	24
Tabla 2. Azúcares y ácidos no volátiles presentes en el jugo de maracuyá amarillo y púrpura. Valores reportados en mg/g jugo	24
Tabla 3. Composición aproximada de micronutrientes por cada 100g de jugo de maracuyá variedad amarilla (<i>Passiflora edulis</i>).....	25
Tabla 4. Tipos de alimentos funcionales y efectos sobre el organismo o algunas funciones biológicas.....	33
Tabla 6. Formulación con diferentes concentraciones a base de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>) y moringa (<i>Moringa oleífera</i>)	46
Tabla 7. Porcentaje de rendimiento de las muestras de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>) y moringa (<i>Moringa oleífera</i>).....	57
Tabla 8. Porcentaje de humedad y cenizas en el concentrado de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>) y moringa (<i>Moringa oleífera</i>).....	58
Tabla 9. Concentración de albúmina para determinar el contenido de proteínas.....	58
Tabla 10. Unidades experimentales expresando la concentración de proteínas en cada una de las mezclas diluidas 1:100	59
Tabla 11. Fructuosa y Glucosa de las muestras expresadas en cantidades porcentuales	61
Tabla 12. Determinación de pH, acidez y sólidos solubles en las diferentes muestras..	62
Tabla 13. Determinación de índice de refracción, densidad y viscosidad en las muestras	63
Tabla 14. Parámetros de color de cada muestra	64
Tabla 15. Índice de madurez (IM) de frutos de maracuyá (<i>P. edulis</i>).....	65
Tabla 16. Determinación cualitativa de flavonoides, fenoles, saponinas y compuestos cianogénicos	66
Tabla 17. Valores Rf de las muestras y las diferentes concentraciones	67
Tabla 18. Porcentaje de inhibición y capacidad antioxidante del ácido ascórbico y concentraciones 1:5 y 1:8	69
Tabla 19. Análisis de varianza (ANOVA) para las mezclas con diferentes concentraciones (1:2 1:5 1:8) de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>) y moringa (<i>Moringa oleífera</i>).....	70

Tabla 20. Prueba post hoc Tukey HSD para las diferentes concentraciones denominadas tratamientos.	70
Tabla 21. Análisis de varianza (ANOVA) para las concentraciones 1:5 y 1:8	71
Tabla 22. Prueba de hoc Tukey HSD para las concentraciones 1:2 y 1:8.....	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fruto Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)	22
Figura 2. Cultivos de Moringa (<i>Moringa oleífera</i>).....	27
Figura 3. Etapas en el diseño de un alimento funcional	30
Figura 4. Núcleo estructural de los principales grupos de polifenoles.....	36
Figura 5. Núcleo estructural de los principales grupos de flavonoides	36
Figura 6. Efecto neutralizante de un antioxidante en un radical libre	38
Figura 7. Hojas de moringa (<i>Moringa oleífera</i>) recolectadas de la Universidad Técnica de Machala	42
Figura 8. Fruto de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>) recolectado del sector Estero Medina	42
Figura 9. Protocolo para la preparación de muestras	44
Figura 10. Protocolo para extracto de Moringa.....	45
Figura 11. Métodos empleados en la investigación.....	49
Figura 12. Evaluación de la capacidad antioxidante por el radical DPPH (2-difenil-1-picril hidrazilo).....	55
Figura 13. Curva patrón con albúmina para cuantificación de proteínas	59
Figura 14. Curva de concentración de proteína en cada una de las mezclas	60
Figura 15. Curva patrón con ácido ascórbico para determinar la capacidad antioxidante	68
Figura 16. Comparación de las mezclas de maracuyá y moringa a concentraciones de 1:5 y 1:8	72
Figura 17. Determinación de humedad de las diferentes mezclas de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>) y moringa (<i>Moringa oleífera</i>).....	83
Figura 18. Muestras de maracuyá (<i>P. edulis</i>), moringa (<i>M. oleífera</i>) y concentraciones 1:2, 1:5 y 1:8.....	83
Figura 19. Determinación de °Brix, % glucosa, % frutuosa e índice de refracción	84
Figura 20. Complejo de color azul por la reducción del reactivo de Folin – Denis por los residuos fenólicos de tirosina, presentes en las proteínas.....	84
Figura 21. Determinación de compuestos bioactivos en las muestras y mezclas de maracuyá y moringa	85
Figura 22. Determinación de acidez titulable	85
Figura 23. Colorímetro de refalctancia Chroma meter CR – 410	86

Figura 24. Corrida de las muestras en la placa de cromatografía en capa fina.	86
Figura 25. Determinación de actividad antioxidante por el método del DPPH	86

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo la obtención de una mezcla óptima a base de maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*), para lo cual se realizaron análisis físico-químicos, nutricionales y la determinación de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante, con el fin de desarrollar una bebida funcional beneficiosa para los consumidores.

Para los análisis se tomaron tres formulaciones a base de maracuyá (*P. edulis*) y moringa (*M. oleífera*), en concentraciones de 1:2, 1:5 y 1:8, para ellos se evaluaron los componentes a nivel de laboratorio.

De acuerdo a los datos obtenidos la mezcla óptima fue aquella de concentración 1:8, debido a que mediante el método del DPPH (2-difenil-1-picril hidrazilo), se indicó que esta mezcla obtuvo valores de IC_{50} de 139,531 $\mu\text{g/mL}$, la concentración 1:2 no demostró resultados muy favorables en cuanto a los análisis físico-químicos y contenido proteico, para el diseño estadístico se utilizaron las mezclas 1:5 y 1:8 por lo cual se demostró que ambas mezclas difieren significativamente ($p < 0,05$) entre ellas, además se reveló la existencia de saponinas, fenoles y taninos permitiendo así relacionar aún más el compuesto en estudio con la actividad antioxidante. Mientras que el contenido proteico fue favorecido para la misma concentración (1:8), otorgando valores significativos de 4,575 mg/mL , esta formulación contiene mayor extracto de moringa (*Moringa oleífera*) que maracuyá (*Passiflora edulis*), estos resultados son considerables debido a que las concentraciones 1:2 y 1:5 presentaron un descenso en su contenido proteico, a menor extracto de moringa menor concentración de proteínas.

Los resultados de toda la investigación han demostrado que se comprueba la hipótesis planteada, debido a que al analizar los componentes por separado y en los tres tipos de concentraciones, se ha obtenido una mezcla óptima con propiedades antioxidantes y un alto valor proteico, que podrán ser útiles para investigaciones futuras como es el desarrollo de la bebida funcional.

Palabras clave: *Mezcla, DPPH, antioxidante, proteínas, bebida funcional.*

ABSTRACT

This research aims at obtaining an optimal mixture of passion fruit (*Passiflora edulis*) and moringa (*Moringa oleifera*), for which physical-chemical, nutritional analysis and determination of bioactive compounds with antioxidant capacity were made, with to the develop a beneficial functional drink for consumers.

For three formulations based analysis passion fruit (*P. edulis*) and moringa (*M. oleifera*) were taken in concentrations of 1: 2, 1: 5 and 1: 8, components for them were evaluated at laboratory.

According to data from the optimal mix it was that of concentration 1: 8, as by the method of DPPH (2-diphenyl-1-picryl hidrazilo), indicated that this mixture obtained values IC₅₀ of 139.531 g / mL, the concentration 1: 2 did not show very favorable results in terms of physical-chemical analysis and protein content, for statistical design blends 1 were used: 5 and 1: 8 which showed that both mixtures differ significantly ($p < 0.05$) including also the existence of saponins, phenols and tannins revealed allowing further relate test compound with antioxidant activity. While the protein content was favored for the same concentration (1: 8), providing significant values of 4.575 mg / mL, the formulation contains more extract of moringa (*Moringa oleifera*) that passion fruit (*Passiflora edulis*), these results are considerable because concentrations 1: 2 and 1: 5 showed a decrease in the protein content, to extract less protein moringa lower concentration.

The results of all the research have shown that the hypothesis is tested as to analyze the components separately and in the three types of concentrations, has obtained an optimum mix with antioxidant properties and a high-protein, which may be useful It is for future research and development of functional beverage.

Keywords: *Mixed, DPPH antioxidant proteins, functional beverage.*

INTRODUCCIÓN

Los alimentos funcionales, definidos como aquellos que, además de satisfacer las necesidades nutricionales básicas, proporcionan beneficios para la salud o reducen el riesgo de sufrir enfermedades, están irrumpiendo con fuerza en los mercados internacionales, dado el interés de los consumidores por la relación entre alimentación y la salud (Rojas, 2010).

Esta investigación está basada en resultados de análisis que se han efectuado para el posible desarrollo de una bebida funcional bajo ciertas condiciones. Nuestra provincia de El Oro se encuentra dotada de varios cultivos los cuales generan el comercio y la productividad, pero existen muchos factores que delimitan la explotación de algunos productos como es: la falta de conocimiento, costos de inversión, el clima y la cultura. Además de esto nuestra provincia carece de industrias que puedan desarrollarse en el campo de la innovación, para esta investigación se utilizó la mezcla de dos productos que no son originarios de la provincia pero se desarrollan con normalidad en nuestro suelo, como es la maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*).

En la actualidad, el consumo de bebidas ha sido de vital importancia, debido a que existe una determinada población quien exige a las industrias de los alimentos a crear productos de fácil acceso aportando los nutrientes necesarios que requiere el organismo para sus funciones. Es así, que las entidades gubernamentales como la Secretaria de Educación Superior de nuestro país está apoyando en el campo de la ciencia y la innovación, para que se generen este tipo de proyectos siempre y cuando se usen materias primas generadas en nuestro país que produzcan un cambio en la matriz productiva.

Este trabajo tiene como objetivo, evaluar la formulación de una mezcla preliminar a la obtención de una bebida funcional a basa de extractos de maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*), con el fin de aportar información de los factores críticos para el futuro desarrollo de una bebida funcional que pueda ser beneficiosa para los consumidores.

Para la interpretación de los resultados y el diseño se utilizó el programa estadístico "Statgraphics", en el cual se concedieron las variables para los notables resultados de la mezcla óptima entre maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*).

La obtención de los análisis de las mezclas compuestas por maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*) se realizó en la Universidad Técnica de Machala, en laboratorios de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud.

Con estos antecedentes, como son los resultados si la investigación tiene efecto en el futuro, el principal beneficiario es el consumidor, debido a que además de alimentarse podrá nutrirse, protegiendo y manteniendo su salud; luego, el sector agrícola (pequeños y medianos productores), puesto que presentará un gran impacto económico debido a que los agricultores podrían explotar con mayor facilidad este tipo de cultivos de fácil adaptación.

DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

El mercado de frutas como la maracuyá que posee el país, vive actualmente una crisis por la falta de organización. Aunque existen algunas asociaciones de productores, estas no han logrado producir y comercializar con resultados satisfactorios para los productores, comercializadores y exportadores, en cuanto a la moringa existen muchos estudios sobre sus propiedades nutricionales, sin embargo el tema del mercado es uno de los cuales posee escasa información. Muchos países en vías de desarrollo están incrementando sus producciones de moringa, uno de ellos Perú. Sin embargo, el consumo de la misma es un tema que no está desarrollado a nivel nacional debido a que no existe conocimiento del producto y sus potencialidades. El uso de este tipo de plantas medicinales como la moringa que mediante estudios realizados en la Planta piloto de Farmacia, Universidad Técnica de Machala, se ha demostrado las diferentes propiedades funcionales como es el caso de su capacidad antioxidante lo que hace que sea posible el diseño y la evaluación de una bebida con la mezcla de estos productos provenientes de nuestra región.

Según Marcos (2008); con una sociedad formada por personas de edad avanzada y dada la incidencia de la obesidad, enfermedades cardiovasculares y otras, como el cáncer, se presenta un sorprendente auge de la industria de los alimentos y sus principales causas son:

Un público que se preocupa más por su salud y compra alimentos con valor nutricional agregado.

Organizaciones públicas encargadas de legislar en materia de alimentos como la norma NTE INEN 2587:2011, reconocen los beneficios de los alimentos funcionales a la salud pública.

Los gobiernos acentúan su atención en estos productos, debido a que prevén su potencial económico como parte de las estrategias de prevención de la salud pública (Alvídrez, 2002).

JUSTIFICACIÓN

Debido al inminente desarrollo de nuestro País, a sus constantes mejoras y el cambio que requiere de matriz productiva en cuanto al uso de materias primas de nuestra localidad, se han escogido dos tipos de productos de forma natural que se producen en nuestra Provincia de El Oro, debido a que la población en la actualidad exige alimentos que no solo satisfagan sus necesidades de hambre, sino también sus necesidades fisiológicas, es decir que, además de alimentarse, nutran su organismo previniendo ciertas enfermedades como es el cáncer, que es una enfermedad que se asocia con los radicales libres y su acción; para ello se analizaron las tres mezclas por medio de un análisis estadístico, siendo estudiadas con el fin de que proporcionen a la industria de los alimentos y a la medicina un gran avance, dando a conocer cuáles son sus componentes.

Además, es importante determinar el potencial antioxidante que presentan la maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*), dos componentes utilizados para las mezclas; a su vez, conocer cuál de estas es la más potente para investigaciones futuras como es el desarrollo de la bebida funcional.

OBJETIVOS

General:

Evaluar la formulación de una mezcla preliminar a la obtención de una bebida funcional a base de extractos de maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*).

Específicos:

1. Identificar la caracterización proximal de las mezclas a base de extractos de maracuyá (*Passiflora edulis*) con moringa (*Moringa oleífera*).
2. Formular un producto a base de extractos de maracuyá (*Passiflora edulis*) y extracto de moringa (*Moringa oleífera*).
3. Caracterizar los parámetros físico-químicas de las mezclas.
4. Determinar cualitativamente los compuestos bioactivos contenidos en las mezclas de maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*), mediante tamizaje fitoquímico y cromatografía en capa fina.
5. Evaluar el contenido proteico de las mezclas de maracuyá y moringa a diferentes concentraciones por el método de Lowry.
6. Evaluar la capacidad antioxidante de la mezcla óptima de maracuyá y moringa, mediante el método del DPPH (2-difenil-1-picril hidrazilo).

1. MARCO TEÓRICO

1.1. MARACUYÁ (*Passiflora edulis*)

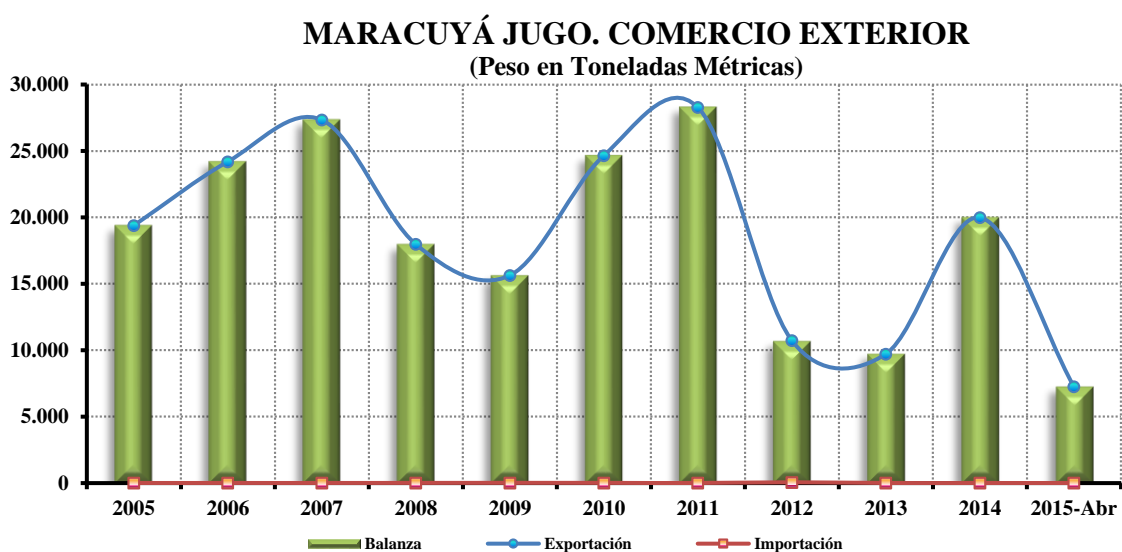
En nuestro país, la maracuyá (*Passiflora edulis*) se encuentra en el litoral ecuatoriano, destacándose las provincias de Los Ríos con 18.553 ha (cantones Quevedo y Mocáche). Manabí con 4.310 ha (cantones sucre, parroquia San Isidro y San Vicente) y Esmeraldas con 1.247 ha (Quinindé y La Concordia), con producción de 247.973 toneladas y productividad media de 8,6 t/ha (Iniap, 2009).

Se desarrolla bien en lugares con temperatura promedio de 21 – 24 °C; crece en climas cálidos, desde el nivel del mar hasta 1000 m de altitud. Como cultivo requiere mínimo de 80 a 120 mm de precipitación mensual; sin embargo, no soporta encharcamientos debido a que sus raíces son muy superficiales. Se adapta a varios tipos de suelo, pero desarrolla mejor en los franco-arenosos o franco-arcillosos, permeables y ricos en materia orgánica, con buen drenaje y aireación (Iniap, 2009).

Como todo cultivo, enfrenta problemas tecnológicos, que reducen el margen de utilidad de los productores, entre los cuales pueden manejar enfermedades y mal manejo de las plantaciones; por lo tanto, es necesario mejorar la productividad del cultivo considerando la importancia socio económica para pequeños y medianos productores de la costa ecuatoriana.

De acuerdo con el SINAGAP (Sistema de Información Nacional del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca), existe con decrecimiento en cuanto a exportación de jugo de maracuyá, es por esto que el producto que se obtiene es solo para consumo nacional; como lo destaca el siguiente gráfico:

Figura 1. Cifras provisionales año 2005 - 2015



Fuente: Banco Central del Ecuador

Durante el periodo 2009-2013, en términos de exportaciones, Ecuador exportó en promedio 17,7 miles de TM anuales de jugo o concentrado de maracuyá, equivalente a \$61,2 millones, mientras que a junio del 2014, se han exportado 8,8 miles de TM, alcanzado los \$45,5 millones, siendo este descenso producto de la alza de precios.

1.1.1. Características del fruto Maracuyá (*Passiflora edulis*)

Figura 2. Fruto Maracuyá (*Passiflora edulis*)



Fuente: López, 2015

El fruto de maracuyá presenta las siguientes características (Hidalgo y Andino, 2011).

- a) Forma: es redonda u ovoide, siendo la variedad amarilla las de mayor tamaño. El grosor de la piel depende de la variedad. La cáscara es lisa, dura y acolchada para proteger a la pulpa y su forma es oval, con un extremo acabado en punta.
- b) Tamaño y peso: tiene un diámetro de 35 a 80 milímetros. El maracuyá amarillo es más largo que el morado y puede llegar a pesar hasta 100 gramos.
- c) Color: su piel varía entre el amarillo o el morado y el naranja, en función de la variedad. La capa interna es blanca y la cavidad contiene gran cantidad de pepitas cubiertas de una carne anaranjada o amarilla y verdosa, muy sabrosa y aromática.
- d) Sabor: tiene un sabor agrídulce muy refrescante, exótico, afrutado y con una leve nota a albaricoque.

1.1.2. Usos

La maracuyá es de un gran valor por su sabor particular intenso, por su aroma y su alta acidez, constituyéndose en una base fuerte para bebidas industrializadas. La cáscara y las semillas también se emplean en la industria por los componentes que tienen. La cáscara es utilizada para preparar raciones alimenticias de ganado bovino, pues es rica en aminoácidos, proteínas carbohidratos y pectina. La semilla contiene un 20 – 25% de aceite, el cual es de mejor calidad que el de la semilla de algodón con relación al valor alimentación y a la digestibilidad; además contiene un 10% de proteína (Centa, 2010).

1.1.3. Composición macronutricional y micronutricional de la fruta y jugo

1.1.3.1 Macronutrientes

La fruta del maracuyá posee atributos refrescantes y un sabor dulce debido a su alto contenido de agua y de carbohidratos, la pulpa contiene aproximadamente el 85-9% de agua y el remanente son elementos que contribuyen al aroma, sabor y el contenido energético. El jugo de maracuyá variedad amarillo es una fuente significativa de energía y una alta contribución de proteínas de 3% y 4,5% del total de calorías (56 kcal) respectivamente (López, 2013).

Tabla 1. Composición aproximada de la pulpa de maracuyá (*Passiflora edulis*). Valores reportados en g/100 mL de porción comestible.

<i>Componentes</i>	<i>Cantidad</i>
Agua	85,9
Energía	56 kcal
Proteínas	1,5
Lípidos	0,5
Carbohidratos	11,4
Fibra	0,2
Cenizas	0,7

Fuente: USDA Nutrient Data Laboratory (2000)

Homnava y col., (1990), realizaron investigaciones de la composición de la fruta fresca, ellos reportan altos niveles de proteínas, grasas y cenizas, un alto porcentaje de agua además muestra el nivel de proteínas en el jugo de variedad amarillo es de aproximadamente 42% más que el de la variedad púrpura. El jugo de variedad amarillo contiene una pequeña cantidad de fibra soluble total

La constitución de los carbohidratos es la mejor fuente de kilocalorías y se muestra en la Tabla 2, la glucosa y la fructuosa son los azúcares predominantes y la cantidad de fructuosa es más alta en la variedad púrpura (Senter y col., 2006).

Tabla 2. Azúcares y ácidos no volátiles presentes en el jugo de maracuyá amarillo y púrpura. Valores reportados en mg/g jugo

Fruto	Fructuosa	Glucosa	Sacarosa	Ácido Máfico	Ácido Cítrico
Maracuyá, amarilla	14,5	19,8	9,1	0,9	6,6
Maracuyá, púrpura	16,2	20,1	8,1	1,3	3,4

Fuente: Senter y col., (2006)

1.1.3.2. Micronutrientes

El jugo de maracuyá variedad amarillo contiene componentes que benefician a la salud, los cuales pueden ser atribuidos a sus macronutrientes: vitaminas, minerales y fotoquímicos. Como otras frutas exóticas el maracuyá proporciona una significativa fuente de nutrientes (Marcelo, 2009).

La maracuyá proporciona una fuente significativa de Vitamina C, puede ser considerada como una fuente alternativa de antioxidantes.

Tabla 3. Composición aproximada de micronutrientes por cada 100g de jugo de maracuyá variedad amarilla (*Passiflora edulis*)

Minerales	Composición
Calcio	4,0 mg
Magnesio	17,0 mg
Potasio	278,0 mg
Zinc	0,06 mg
Cobre	0,5 mg
Selenio	0,10 mg
Vitaminas	
Ácido ascórbico	18,2 mg
Ácido fólico	8,0 mg
Vitamina A	241 UI*
Vitamina A	241 µg RE**
Vitamina E	0,05 µg α-TE***

UI: Unidades Internacionales; µg RE: microgramos de retinol (1 mcg = 3,3 UI); µg α-TE: microgramos de alfa-tocoferol (1 mg α-TE = 1,5 UI).

Fuente: Senter y col., (2006)

1.2. MORINGA (*Moringa oleifera*)

M. oleifera es la especie más conocida del género Moringa. Es un árbol originario del sur del Himalaya, el nor-este de la India, Bangladesh, Afganistán y Pakistán (Foidl y col., 1999).

García (2003), la conoce con el nombre común marango, pertenece a la familia Moringaceae y su nombre científico es *Moringa oleifera* Lam.

La Comisión Técnica de Fitomed (2010), informa que se conoce además con otros nombres comunes, como palo jeringa, ben, acacia y jazmín francés. Es un árbol de hasta 9 m de altura. Las hojas son compuestas y están dispuestas en grupos de folíolos, con cinco pares de éstos acomodados sobre el pecíolo principal y un folíolo en la parte terminal. Las hojas son alternas tripinnadas, con una longitud de 30-70 cm.

1.2.1. Propagación, suelo y clima.

Según Reyes (2006), la moringa es resistente a la sequía y tolera una precipitación anual de 500 a 1 500 mm. Además crece en un rango de pH de suelo entre 4,5 y 8, excepto en arcillas pesadas, y prefiere suelos neutros o ligeramente ácidos. Por otra parte, Croess y Villalobos (2008), señalan que Moringa es un género de plantas con numerosas especies distribuidas en zonas áridas y semiáridas de la India, Pakistán y el sur de Himalaya.

A su vez, García (2003), explica que en Centroamérica se encuentra en zonas con temperaturas de 6 a 38 °C. Es resistente al frío por corto tiempo, pero no menos de 2 a 3 °C. En las temperaturas menores de 14 °C no florece y solamente se puede reproducir vegetativamente (por estacas). Se localiza desde el nivel del mar hasta 1 800 msnm.

Es una especie adaptada a una gran variedad de suelos. Falasca y Bernabé (2008), plantearon que en su hábitat natural las temperaturas medias anuales presentan grandes fluctuaciones. Durante los meses más fríos soporta entre -1 °C y 3 °C; mientras que en los meses más cálidos de 38 °C a 48 °C. En sentido general se puede decir que es una especie de gran plasticidad ecológica, debido a que se encuentra localizada en diferentes condiciones de suelo, precipitación y temperatura.

1.2.2. Características

La figura 3, muestra cultivos de moringa que pertenecen a la empresa ECUAMORINGA, encargados de la investigación, desarrollo, e implementación de cultivos de alta densidad y bosques de moringa en Ecuador.

Figura 3. Cultivos de Moringa (*Moringa oleífera*)



Fuente: Ecuamoringa

Se trata de un árbol perenne pero poco longevo, que a lo sumo puede vivir 20 años, aunque se han obtenido variedades en la India que son anuales. Es una especie de muy rápido crecimiento. Aporta una elevada cantidad de nutrientes al suelo, además de protegerlo de factores externos como la erosión, la desecación y las altas temperaturas (Jyothi y col., 1990; Morton, 1991).

1.2.3. Composición química.

García y col., (2006), evaluaron la composición química de seis especies en el estado Trujillo de Venezuela, entre las que se encontraba *M. oleifera*. El contenido de proteína cruda en todas las plantas fue alto. Los niveles de P, Ca y Mg no presentaron variaciones importantes entre las arbóreas y las máximas concentraciones de K y Na se observaron en *M. oleifera*. Además esta especie, de forma individual, presentó uno de los mayores contenidos de carbohidratos solubles y ceniza.

1.2.4. Usos

Price (2000), lo recomienda para la producción de aceites antibióticos, hormona del crecimiento, para contrarrestar la desnutrición de los niños y como alimento humano en general. Las hojas tiernas son comestibles y son comúnmente cocinan y se comen como las espinacas o utilizarse para hacer sopas y ensaladas. Son una fuente excepcional de provitamina A, vitaminas B y C, minerales (en particular de hierro), y los aminoácidos metionina y cistina que contiene azufre. La composición de los aminoácidos en la proteína de la hoja está bien equilibrada, las vainas verdes son muy sabrosas y se pueden hervir y comer como judías verdes. Las vainas son mejor para el consumo humano en la etapa en la que se pueden romper fácilmente sin dejar ningún tipo de condiciones visibles de fibra. Estos son ricos en leucina libre (Price, 2000).

1.3. ALIMENTO FUNCIONAL

Los alimentos funcionales (AF), son el más reciente aporte científico en el campo de la Ciencia Tecnología de los Alimentos, y aun constituyen un tema muy discutido entre los países occidentales y orientales.

El comercio de los alimentos funcionales crece en países como Estados Unidos, Japón y Europa impulsándose su comercio en nuestro país Ecuador no muy lejos de producir sus propios alimentos funcionales, para esto se requiere de mucha integración para uniformar criterios y establecer una legislación internacional que evite los fraudes y confusiones. En los Estados Unidos los alimentos funcionales no están reglamentados (Ros, 2000); sin embargo esto no ha impedido que varias organizaciones de salud pública y comerciales prepusieran definiciones para esta nueva área de las ciencias de la alimentación y nutrición.

La Acción Concertada de la Comisión Europea sobre Ciencias de los Alimentos Funcionales en Europa (Functional Food Science in Europe), describió los alimentos funcionales de la siguiente manera; un alimento puede considerarse "funcional" si se demuestra satisfactoriamente que, además de sus efectos nutritivos, afecta beneficiosamente a una o más funciones del organismo de modo que mejora el estado de salud o bienestar, reduciendo el riesgo de enfermedad.

Los procedimientos para obtener alimentos funcionales son diversos, este enfoque innovador ha venido avalado por el desarrollo de investigación bioquímica y biológica básica y del metabolismo en humanos; también ha contribuido los nuevos avances en las tecnologías relacionadas, de manera que actualmente se conoce la estructura física y la composición química de los productos alimenticios (Palou y Serra, 2000).

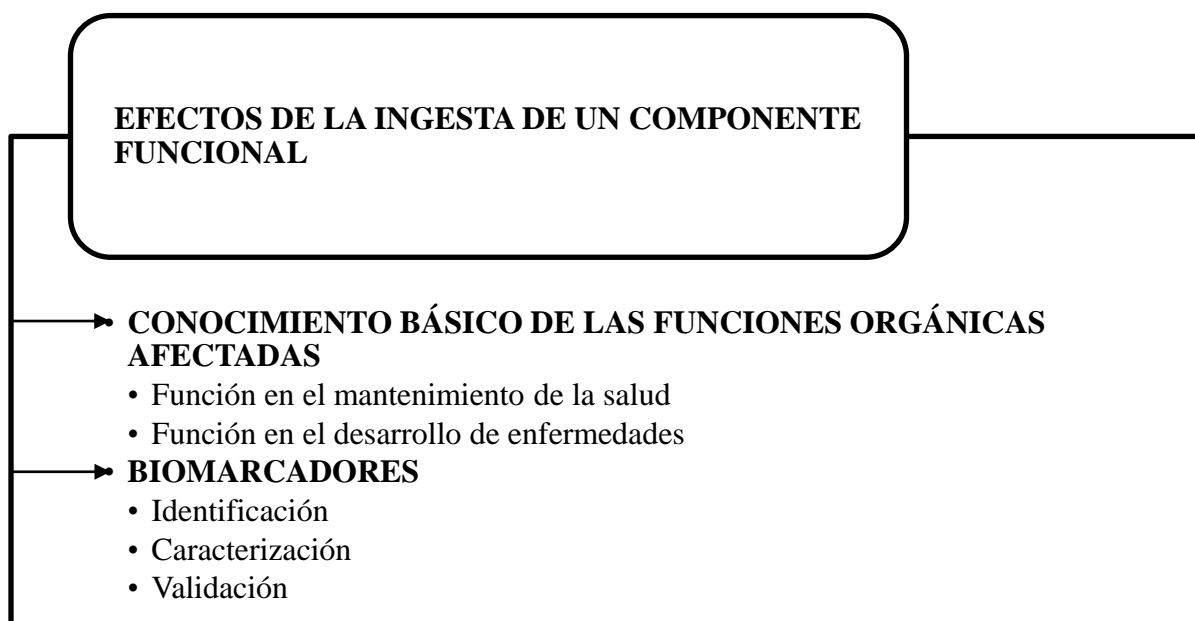
Según el grupo de trabajo del proyecto FUFOSE (Functional Food Science in Europe), enuncia, además, una serie de características adicionales que son compatibles con la definición: un alimento funcional siempre debe ser un alimento (se excluyen explícitamente píldora o cápsulas), pero puede ser un alimento natural, o también puede ser un alimento transformado tecnológicamente para retirar o modificar alguno de sus componentes o añadir un nuevo elemento. Estas transformaciones no confieren necesariamente el carácter de alimento funcional, sino que el efecto funcional debe demostrarse expresamente en cada caso.

El término “funcional” no es probablemente el más apropiado puesto que en todos los componentes nutritivos subyace ya una función o funciones, y ahora la funcionalidad simplemente se refiere a un efecto que va más allá del valor nutritivo tradicional, debido a que el objetivo primario de la ciencia de la alimentación funcional son identificar las interacciones beneficiosas entre un alimento concreto y una o más funciones del organismo y, además obtener evidencias sobre los mecanismos implicados en la interacción. Estos objetivos primarios de la nueva ciencia deben cubrirse con la metodología científica apropiada y de uso común en las ciencias de la vida (Valenzuela y *col.*, 2008).

1.3.1. Desarrollo de un alimento funcional

El diseño y desarrollo de un alimento funcional es un reto científico que debería basarse en un esquema secuencial cronológico, tal como el que se muestra en la figura 4.

Figura 4. Etapas en el diseño de un alimento funcional



Fuente: Palou y Serra, 2000

El desarrollo de alimentos funcionales, constituye una oportunidad real de contribuir a la mejora de la calidad de la dieta y a la selección de alimentos que pueden afectar positivamente la salud y el bienestar del consumidor.

1.4. CONOCIMIENTO BÁSICO DE LAS FUNCIONES ORGÁNICAS AFECTADAS

1.4.1. Función en el mantenimiento de la salud

Según Lahoz y *col.*, (2000), para entender mejor la función fisiológica de los antioxidantes en el organismo es necesario recordar que el oxígeno actúa como carburante en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas; liberándose dióxido de carbono, agua, energía calórica y diversos catabolitos; sin embargo el incremento de los procesos metabólicos se acompaña de la producción de radicales libres (Pineda y *col.*, 1999).

Al conocer los efectos negativos que provocan los radicales libres, podemos entender mejor la función y efecto que tienen los antioxidantes en la salud, que como su nombre lo indica, es evitar la oxidación de sustancias que puedan provocar alteraciones fisiológicas, facilitar el uso fisiológico del oxígeno por parte de las mitocondrias

ayudando a reducir los efectos del estrés oxidativo y la falta de oxígeno (Kleiner, 1996); formando complejos que mitigan las reacciones productoras de radicales libres y por consiguiente desempeñando una función fundamental en la prevención de las enfermedades derivadas del estrés oxidativo (Zamora y *col.*, 2007).

1.4.2. Función en el desarrollo de enfermedades

En determinadas circunstancias, la producción de radicales libres puede aumentar en forma descontrolada, situación conocida con el nombre de estrés oxidativo. El concepto expresa la existencia de un desequilibrio entre las velocidades de producción y de destrucción de las moléculas tóxicas que da lugar a un aumento en la concentración celular de los radicales libres (Desmarchelier y *col.*, 1998).

Existen evidencias que sugieren la existencia de una relación entre el estrés oxidativo y el origen de numerosas enfermedades. Por ejemplo, las células fagocíticas del sistema inmune (neutrófilos, monocitos, macrófagos y eosinófilos) que defienden al organismo contra la agresión de agentes extraños, producen grandes cantidades de radicales libres como parte del mecanismo que les permite destruir dichos agentes. Aunque esto constituye una defensa esencial contra la infección, hay enfermedades tales como la artritis reumatoidea que se produce por exceso de activación fagocitaria y el consecuente daño a los tejidos (Desmarchelier, y *col.*, 1998).

Se ha estudiado si la obesidad por sí misma puede inducir un estrés oxidativo el cual sería uno de los mecanismos por el cual se produce la desregulación de las adipocitocinas en el síndrome metabólico; encontrando que en individuos sanos: 1- la acumulación de grasa se correlaciona con el estrés oxidativo, 2- los valores plasmáticos de adiponectina se correlacionan en forma inversa con el estrés oxidativo, 3- el estrés oxidativo produce una desregulación de las adipocitocinas; lo cual puede generar resistencia a la insulina, alterar la secreción de las células beta del páncreas y participar en los fenómenos vinculados con el síndrome metabólico como la diabetes y la hipertensión (Furukawa, y *col.*, 2004).

En el caso del Síndrome de Fatiga Crónica se ha encontrado que el estrés oxidativo y más específicamente la peroxidación lipídica contribuyen a esta enfermedad y a algunos de sus síntomas, demostrándose que los pacientes presentan concentraciones

significativamente aumentadas de F2- isoprostanos junto con otros marcadores claves del estrés oxidativo (Kennedy, y col., 2005).

1.4.3. Estrategias en la producción de alimentos funcionales

Según Palou y Serra (2000), el objetivo tradicional del procesamiento de los alimentos ha sido convertir materias primas en productos alimenticios sanos, nutritivos, seguros, con unas propiedades físico-químicas que prolonguen su vida media y que mantengan o mejoren sus características organolépticas hasta el momento de su consumo. El desarrollo de alimentos funcionales requiere, además, la presencia de al menos un componente funcional, que debe ser optimizado, añadido o eliminado (estrategia que depende del alimento de partida y del objetivo propuesto) del alimento. Ello añade un grado de complejidad al proceso de producción. Un producto alimenticio se puede convertir en un alimento funcional mediante cinco estrategias básicas:

- a) Eliminar un componente, del cual se sabe que causa un efecto perjudicial al consumidor.
- b) Incrementar la concentración de un componente natural del alimento.
- c) Adicionar un componente, que no se halla normalmente presente en la mayoría de los alimentos, pero que se ha demostrado que causa efectos beneficiosos.
- d) Sustituir un componente que provoca efectos no deseables por otro que tiene efectos neutros o beneficiosos sobre la salud.
- e) Alterar la biodisponibilidad metabólica, ya sea mejorando la de compuestos que producen efectos beneficiosos como dificultando la de los componentes perjudiciales.

1.4.4. Técnicas analíticas para el diseño.

Los métodos analíticos que se apliquen para producir datos de composición química de alimentos deben ser apropiados, utilizando técnicas analíticas proximales.

En esta elección de un método particular, se debe conocer, en primer lugar la química del nutriente, la naturaleza del sustrato alimenticio a ser analizado, el efecto del procesamiento y la preparación sobre la matriz del alimento y en el nutriente, y el rango esperado de concentración del nutriente. El segundo requisito es comprender las

implicancias nutricionales del nutriente, lo cual incluye su rol, su distribución en los alimentos y su importancia relativa en alimentos individuales en el suministro dietario total del nutriente (FAO, 2010).

1.4.5. Tipos de alimentos funcionales

En la tabla 4, se presentan algunos alimentos descritos en la literatura (IFIC, 2006) como funcionales y otros que aunque no se especifican como tales, pueden considerarse así por las propiedades que se les atribuyen.

Tabla 4. Alimentos funcionales y efectos sobre el organismo

Ingredientes funcionales	Efectos	Ejemplos
Probióticos	Mejoran la función intestinal	Lactobacilos y bifidobacterias
Prebióticos	Favorecen el crecimiento de las bacterias intestinales beneficiosas.	Fructo – oligosacáridos
Vitaminas	Reducen el riesgo de enfermedades cardiovasculares y osteoporosis	Vitamina B6, Vitamina B12 ácido fólico, vitamina D y vitamina K
Minerales	Reducen el riesgo de osteoporosis y fortalecen el sistema inmune	Calcio, magnesio y zinc
Antioxidantes	Reducen el riesgo de enfermedades cardiovasculares y el desarrollo de tumores	Carotenoides, polifenoles, vitaminas C y E, flavonoides
Ácidos grasos	Reducen el riesgo de enfermedades cardiovasculares y el desarrollo de tumores. Reducen el síntoma de la menopausia.	Ácidos grasos, Omega 3, ácido linoleico

Fuente: IFIC (International Food Information Council), 2006

1.4.6. Bebida funcional

Se define las bebidas funcionales como aquellas que ofrecen "un beneficio para la salud más allá de su contenido nutritivo básico, en virtud de sus componentes fisiológicos

Se dividen a su vez en cuatro categorías principales:

- Bebidas enriquecidas (jugos y aguas con vitaminas y minerales agregados) (Alcivar y Morales, 2010).
- Bebidas con bifidobacterias (Rojas, 2010).
- Bebidas energéticas (Macias, 2011).
- Nutracéuticos (bebidas que incorporan ingredientes medicinales específicos) (Comeraña, y *col.*, 2009).

1.5. COMPUESTOS BIOACTIVOS

Componentes de los alimentos que influyen en la actividad celular y en los mecanismos fisiológicos y con efectos beneficiosos para la salud (Biesalski, y *col.*, 2009).

Las sustancias bioactivas o fitoquímicos se encuentran abundantemente en frutas y verduras.

Aunque no se les puede considerar sustancias esenciales, debido a que no se requieren para nuestro metabolismo, son indispensables a largo plazo para nuestra salud. Intervienen ejerciendo un efecto protector del sistema cardiocirculatorio, reductor de la presión sanguínea, regulador de la glucemia y la colesterolemia, reductor del riesgo de cáncer y mejorador de la respuesta defensivo inmunitario de nuestro cuerpo. Dentro de estos compuestos se encuentran los antioxidantes (Panadés, 2009).

1.5.1. Antioxidantes

Los antioxidantes son aquellos compuestos químicos que el organismo puede utilizarlos para eliminar los radicales libres que son sustancias químicas muy reactivas que según Ramírez y *col.*, (2012), introducen oxígeno en las células y producen la oxidación se sus diferentes partes, alteraciones en el ADN y cambios diversos que aceleran el envejecimiento del cuerpo, el oxígeno puede que sea un elemento imprescindible en la vida, pero también es un elemento químico muy reactivo. Nuestro cuerpo genera radicales

libres para su propio uso, pero al mismo tiempo genera antioxidantes que no suelen ser los suficientes para eliminar ciertos radicales libres sobrantes, debido a que son sustancias muy agresivas.

La capacidad antioxidante celular está dada por mecanismos a través de los cuales la célula anula la reactividad y/o inhibe la generación de radicales libres (Thornalley y *col.*, 1992).

El uso de los antioxidantes es de gran importancia, debido a que en nuestro organismo se produce el estrés oxidativo, de manera general escurre cuando un átomo inestable pierde un electrón (partícula con carga negativa), lo que permite que este forme un compuesto nuevo con otro elemento, causando un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno y la capacidad de un sistema biológico para limpiar el organismo de sustancias nocivas. El oxígeno que nuestro cuerpo utiliza para respirar es uno de los principales responsables de la oxidación celular y sirve para producir energía en todo el organismo, pero pequeñas porciones de este elemento producen radicales libres (Comesaña y *col.*, 2001).

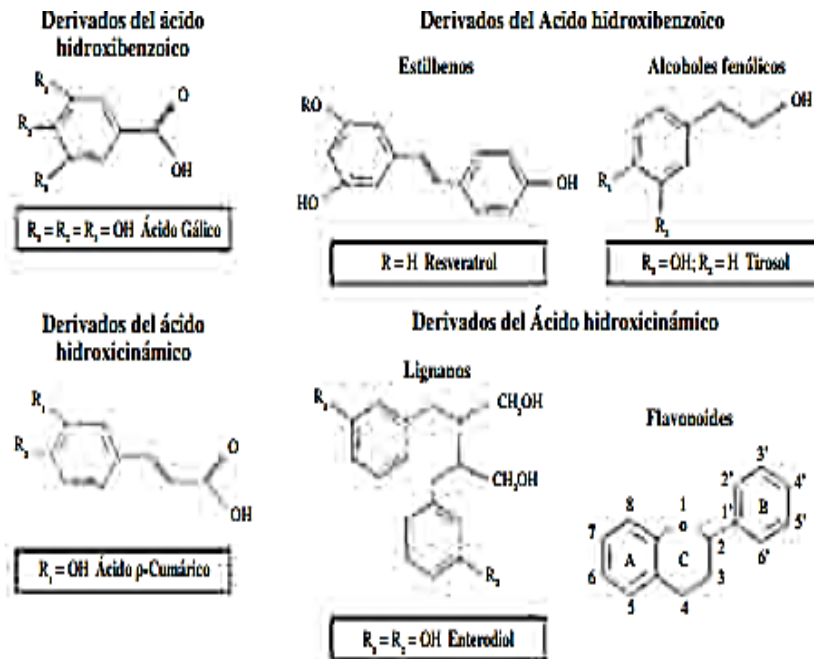
1.5.1.1. Polifenoles y Flavonoides.

Fitoquímicos es el nombre genérico con el que se conoce a una serie de sustancias que se encuentran en las plantas, principalmente, se utiliza para hacer referencia a sus compuestos bio-activos que no tienen valor nutricional. Las frutas y vegetales ayudan a reducir de manera considerable las enfermedades crónicas, como cáncer o enfermedades cardiovasculares (Rojas y Tomás, 2010). Este efecto de protección ha sido asociado con una variedad de constituyentes nutrientes y no nutrientes, siendo muchos de ellos caracterizados por sus propiedades antioxidantes. Los flavonoides son la subclase de polifenoles más grande y abundante del mundo vegetal. Se distribuyen en las plantas vasculares de manera ubicua y la variedad de sus propiedades biológicas ha llamado poderosamente la atención de los investigadores, de modo que, hoy día, es el grupo de polifenoles más estudiado (Rodríguez y *col.*, 2010).

Se han descrito para los flavonoides propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antiagregantes, antihemorrágicas, vasodilatadoras, antineoplásicas, antivirales,

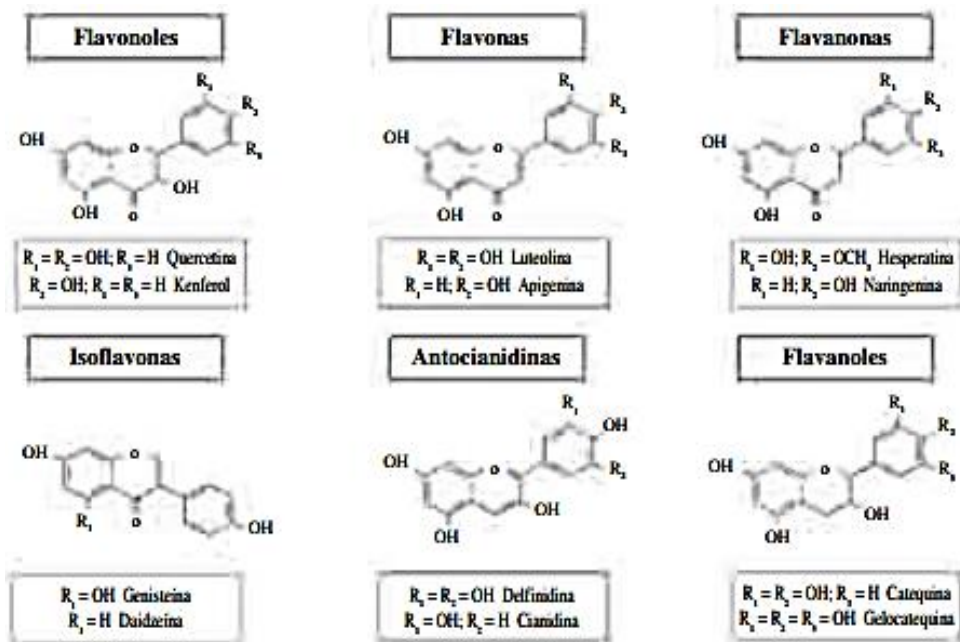
antibacterianas, antialérgicas y hepatoprotectoras (Hassimotto y col., 2008; Álvarez y Orallo, 2003).

Figura 5. Núcleo estructural de los principales grupos de polifenoles.



Fuente: Quiñones y col., 2012

Figura 6. Núcleo estructural de los principales grupos de flavonoides



Fuente: Quiñones y col., 2012

Taninos.

Los taninos son metabolitos secundarios de las plantas, que comprenden un grupo heterogéneo de polifenoles, tienen un peso molecular comprendido entre 500 y 3000 Daltons. Sus principales características son su capacidad antioxidante –debido al elevado número de grupos hidroxilo- y la capacidad de unirse a proteínas. También pueden ligarse a alcaloides, gelatinas y otros materiales, aunque parece que las interacciones tanino-proteína son la base de sus actividades biológicas (Santos y Scalbert 2000).

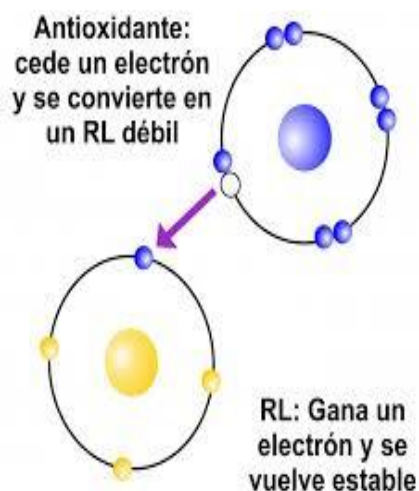
Químicamente hay dos tipos principales de taninos: hidrolizables y no hidrolizables. Presentan una distribución desigual en las plantas; los no hidrolizables están presentes de forma general en los helechos y las gimnospermas, mientras que los hidrolizables solo están presentes en las dicotiledóneas (Castillo y Martínez, 2007).

1.6. RADICALES LIBRES

Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre por lo que son muy reactivos, debido a que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica (Avello, y *col.*, 2006).

Es por esto que cuando el radical libre consigue sustraer un electrón que necesita, la molécula estable que cede el electrón queda desapareada y por ende se convierte en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una cadena que destruye las células. (Chavely y *col.*, 2009). Puede que la vida media biológica de un radical libre sea de microsegundos pero estos tienen la capacidad de reaccionar con todo aquello que este a su alrededor dañando las moléculas, membranas celulares y tejidos. Estos no son deletéreos; de hecho nuestro propio organismo es el que los produce en cantidades moderadas para luchar contra mecanismos ofensivos que pueden traer enfermedades como son las bacterias y virus (Gutiérrez, 2006).

Figura 7. Efecto neutralizante de un antioxidante en un radical libre



Fuente: Cortes, 2012

1.7. ENZIMAS

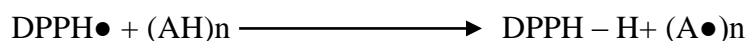
Las enzimas son catalizadores proteicos sintetizados por sistemas vivos (por células animales, vegetales o microbiológicas) (Beltrán y *col.*, 2007). Cada enzima actúa casi siempre sobre un único sustrato o sobre un grupo muy reducido de ellos, sin que ella misma experimente algún cambio significativo neto (Silvia y *col.*, 2004). Las enzimas tienen una temperatura y pH óptimo de actuación y su acción puede ser inhibida o potenciada por otros compuestos o cofactores. Estas propiedades hacen de las enzimas puntos de control efectivos de muchas reacciones bioquímicas en procesos tecnológicos (Romero, 2008).

1.8. MECANISMO DE ACCIÓN DEL RADICAL DPPH (2-difenil-1-picril hidrazilo)

El ensayo de DPPH es una de las numerosas técnicas empleadas para valorar la capacidad secuestradora de radicales de compuestos específicos o extractos naturales (Álvarez y Cárdenas, 2010). Esta técnica espectrofotométrica emplea el radical 2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH), que posee un espectro de absorbancia característico, con un máximo de absorbancia a 517 nm. (Brand y *col.*, 1995).

El método de DPPH es un ensayo colorimétrico simple basado en la disminución de la absorbancia del radical DPPH. Se fundamenta en la estabilidad del radical 1,1-difenil-2-

picrilhidrazil (DPPH) la cual se atribuye a la deslocalización del electrón desapareado, esta deslocalización también le otorga una coloración violeta caracterizada por una banda de absorción, en solución etanólica, centrada alrededor de 517nm. (Abad y Cabezas, 2013). La desaparición del DPPH proporciona un índice para estimar la capacidad del compuesto de prueba para atrapar radicales. El modelo que explica la actividad de un compuesto como antirradical se ejemplifica con la siguiente ecuación:



Donde AH es un antioxidante que actúa como antirradical donando átomos de hidrógeno, dando como resultado radicales con estructuras moleculares estables que detendrán la reacción en cadena, tal es el caso de los fenoles. El nuevo radical formado (A) puede interactuar con otro radical para formar moléculas estables (DPPH-A,A-A) (Borras, 2013).

Es altamente confiable y comparable con otros métodos como ABTS (Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolín), sin embargo, el empleo del radical DPPH (2-difenil-1-picrilhidrazilo) en el método espectrofotométrico posee ventajas en simplicidad, reproducibilidad y rapidez (Brand y col., 1995).

2. METODOLOGÍA

2.1. DELIMITACIÓN

Campo científico: Alimentos

Área: Investigación básica

Sub-área: Agrícola

Sector: Maracuyá y Moringa

Sub- sector: Bebidas

Espacial: Provincia de El Oro, Ecuador

2.2. ENFOQUE DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación tiene un enfoque cualitativo y cuantitativo. Cualitativo, debido a que se determinó la presencia y ausencia de algunos compuestos químicos favorables para la obtención de la mezcla óptima de maracuyá y moringa, y cuantitativo por tanto se evaluara el porcentaje de inhibición lo cual corresponde a la cantidad de radical DPPH neutralizado por el extracto en estudio a una determinada concentración, a fin de obtener información experimental de aspectos que puedan caracterizar según su contenido y análisis revelen resultados significativos aportando información a investigaciones posteriores y así revalorizar este cultivo.

2.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el diseño experimental se realizó un estudio de manera aleatoria con 3 tratamientos (A= Constante; B = 3 concentraciones) y 3 repeticiones; y para determinar la prueba Post – Hoc Tukey HSD de comparación múltiple se utilizó 2 de control. Las variables de respuesta analizadas fueron proteínas, capacidad antioxidante, es decir, el diseño utilizado en la investigación, estudió el comportamiento de tres concentraciones (v/v). En este caso, se estuvo en presencia de un experimento factorial en el que se estudió los efectos de dos factores (concentrado de maracuyá y extracto de moringa).

La capacidad antioxidante, así como el contenido proteico, fueron determinados mediante métodos espectrofotométricos; de esta manera y con la ayuda de un análisis estadístico a través de la prueba de Tukey, con un nivel de significancia de ($p < 0,05$), se determinó cual fue la mezcla óptima para la obtención de una bebida funcional, los resultados de los diferentes tratamientos fueron aparejados con muestras control.

Tabla 5. Diseño del experimento

Factor A: Maracuyá	Factor B: Moringa	Tratamientos
Niveles	Niveles	
A_1	B_2	A_1B_2
A_1	B_5	A_1B_5
A_1	B_8	A_1B_8

Fuente: López, 2015.

En la tabla 5, se indica el modelo empleado para el diseño, para lo cual los números del diseño 1:2, 1:5 y 1:8 representan la concentración de cada muestra.

2.4. TIPO DE MUESTRA

Para el análisis y la investigación respectiva se usó las hojas de la planta de moringa (*Moringa oleífera*), que se obtuvieron de las parcelas ubicadas en la Universidad Técnica de Machala, Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias, aplicando una extracción hidro-alcohólica de esta manera se asegura un mayor aprovechamiento de los principios activos. Y se utilizó el extracto acuoso para la obtención del concentrado de maracuyá utilizando solo la pulpa de la fruta previamente macerada, estas muestras fueron recolectadas del sector Estero Medina, cantón Santa Rosa – Provincia de El Oro.

Figura 8. Hojas de moringa (*Moringa oleífera*) recolectadas de la Universidad Técnica de Machala



Fuente: López, 2015.

Figura 9. Fruto de maracuyá (*Passiflora edulis*) recolectado del sector Estero Medina



Fuente: López, 2015.

2.5. DESCRIPCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

2.5.1. Localización de la Investigación.

El presente trabajo de investigación, se realizó en la Planta Piloto de Farmacia, Laboratorio y Laboratorio de Investigaciones de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud de la Universidad Técnica de Machala.

2.5.2. Selección de las muestras

Para la toma de muestras se realizara empleando la vestimenta y el material adecuado para su recolección, realizando un proceso de selección para su obtención evitando aquellas que han sido atacadas por insectos, plagas u otros agentes que disminuyan su calidad, el traslado en un transporte adecuado para las muestras para evitar que golpes degeneren la calidad de la muestra.

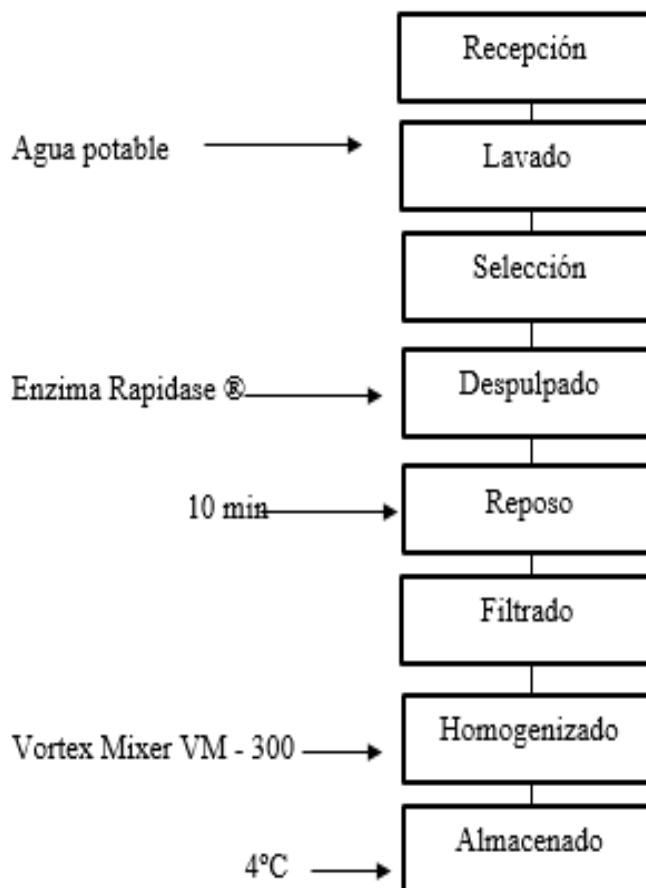
2.5.3. Selección y procesamiento de las muestras.

Se tomó 1 kg de muestra de maracuyá (*Pasiflora edullis*), peso requerido para la investigación, las muestras fueron recolectadas del sector Estero Medina, cantón Santa Rosa – Provincia de El Oro, luego fueron trasladadas a la planta piloto de farmacia de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud, de la Universidad Técnica de Machala, en donde mediante la enzima Rapidase® se obtuvo el concentrado de la pulpa de maracuyá sin semillas.

Para el caso de la moringa se utilizó la misma cantidad en peso (1kg) de las hojas de moringa a analizarse (*Moringa oleífera*), las muestras fueron recolectadas de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala, para ello se separó las hojas de las tallos, para la limpieza se las lavó con agua corriente, y posteriormente se realizó un enjuague con agua destilada, se dejan secar y posteriormente se pulveriza. Se colocaron 50 gr de hojas pulverizadas de moringa en un Erlenmeyer de 250 mL, se adicionó etílico en una relación 1:1 tapando la muestra para evitar que se volatilice, posteriormente se deja reposar 48 horas, a 28 °C, posteriormente se filtró obteniendo solo la parte líquida para los análisis de la investigación.

2.5.4. Preparación de extracto de Maracuyá (*Passiflora edulis*)

Figura 10. Protocolo para la preparación de muestras



Fuente: López, 2015.

Se seleccionaron las muestras sin daños externos por insectos, golpe de sol ni manchas. Posteriormente, pasaron por un proceso de lavado por inmersión en agua potable con germicida durante cinco minutos, Luego se procedió a extraer la pulpa del fruto, para ello, se utilizó la enzima Rapidase®; donde se tomó 100 µl de enzima y se le adicionó a 74 g de muestra, se dejó reposar durante 10 min. A continuación, se filtró con papel filtro No 4, obteniéndose la pulpa extraída del maracuyá.

Enzima Rapidase®

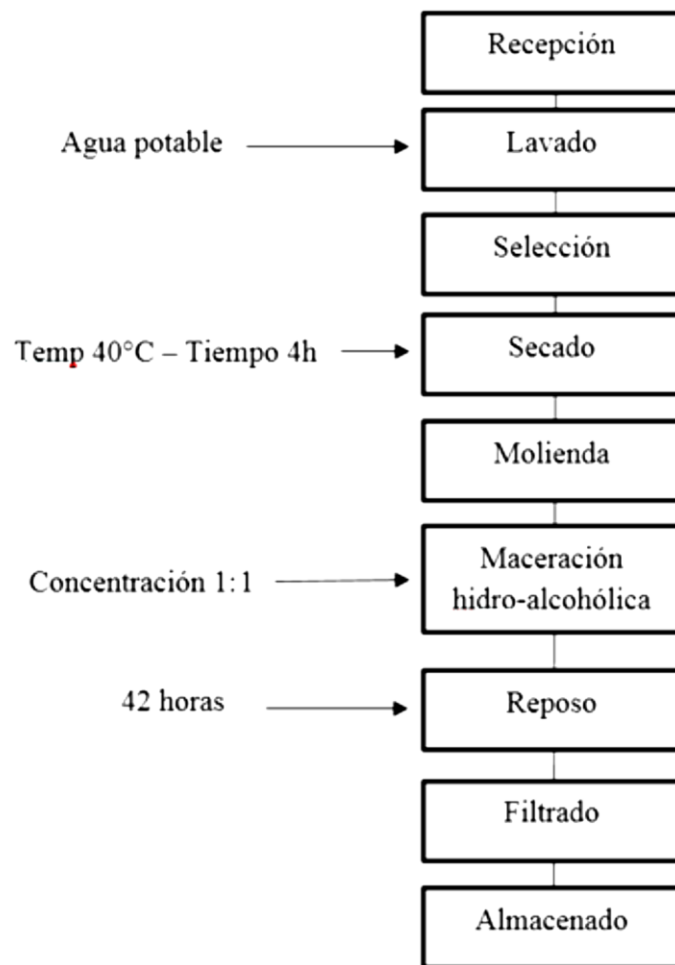
Se utilizó una mezcla comercial de enzima: Rapidase® ProL (Gist – Brocades, Seclin, Frnce), que contiene polygalacturonasa (pectinasa) y α -amilasa producida a partir del hongo *Aspergillus niger* donada por el Departamento de Enzimología de la Universidad

de Lleida (España). La actividad de la solución enzimática es de 139,000 AVJP/g (unidades endopectinasa). Una unidad de AVJP es la cantidad de enzima cuando se utilicen dosis de enzimas comerciales tan altas como 1 mL de enzima por litro de pulpa (Ibarz y col., 2011). La cual induce una variación de viscosidad de 1 mPa·s con una velocidad aparentemente constante de 2.7×10^{-4} minutos⁻¹ a pH 4.5 (Echavarría y col., 2012).

La aplicación de estas enzimas a los jugos ha sido un gran avance en la tecnología alimentaria, gracias a que supone imitar procesos metabólicos naturales, lo que ayuda en la obtención de jugos clarificados de calidad.

2.5.5. Preparación de extracto de Moringa (*Moringa oleífera*)

Figura 11. Protocolo para extracto de Moringa



Fuente: López, 2015.

Las hojas de moringa fueron previamente lavadas, luego seleccionando y evitando aquellas que han sido atacadas por insectos para de esta manera no modificar la calidad del producto, posteriormente se llevó a un secado en la estufa a 40°C durante 4 horas, luego se realizó la molienda en un triturador de cuchillas. Una vez obtenida la muestra seca y pulverizada se procede a macerar en solución etanólica al 98%, dejando reposar en un Erlenmeyer durante 42 horas, pasado el tiempo se realiza un filtrado dando como resultado el extracto líquido, se lo almacena en envases de plástico a temperatura ambiente.

2.5.6. Preparación de mezclas

Para las mezclas se utilizaron las siguientes concentraciones:

Tabla 6. Formulación con diferentes concentraciones a base de maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*)

Muestra de Maracuyá (mL)	Muestra de Moringa (mL)	Concentración (v/v)
1	-	1
-	1	1
1	1	1:2
1	4	1:5
1	7	1:8

Fuente: López, 2015.

2.6. DISEÑO Y OPTIMIZACIÓN DE LA FORMULACIÓN.

En estas mezclas la calidad de los antioxidantes y algunos nutrientes son considerados usualmente como el criterio de optimización y para ello es necesario encontrar cuál de las distintas mezclas es la más favorable en cuanto a formulación de forma que, además de cumplir las restricciones nutricionales y funcionales definidas, garantice las necesidades nutricionales del posible consumidor.

Integrar todos estos factores simultáneamente solo es posible a través de técnicas matemáticas y mediante la aplicación de los medios de computación.

A nivel de laboratorio, se establecieron los parámetros que garantizan la calidad integral del producto (proteínas, capacidad antioxidante), tanto el proceso como la formulación deben ser optimizadas dentro de las restricciones del perfil de nutrimentos requeridos.

2.6.1. Materiales

2.6.1.1. Materiales de laboratorio

- Tubos de ensayo
- Cubetas de Cuarzo
- Micropipetas
- Vaso de precipitación 250 mL, 50 mL, 25 mL
- Capsulas de porcelana
- Pinza
- Pipetas 50 mL, 10 mL y 25mL
- Desecador de campana
- Erlenmeyer de 250 mL
- Probeta de 100mL
- Bureta de 25mL
- Papel filtro
- Pera
- Soportes
- Lámpara de luz blanca

2.6.1.2. Reactivos

- Solución metanólica de DPPH
- Ácido ascórbico
- Metanol
- Alcohol etílico 98%
- Solución buffer fosfato a un pH de 7,4 – 4,7 - 10
- Fenolftaleina al 1%
- Agua destilada libre de CO₂
- Solución valorada 0,1N de hidróxido de sodio
- HCl 0,1 N
- NaOH a 0,1N

- Rapidasa ®
- Carbonato sódico
- Reactivo de Folin
- Tártaro sódico
- Albúmina
- Anaranjado de metileno

2.6.1.3. Equipos

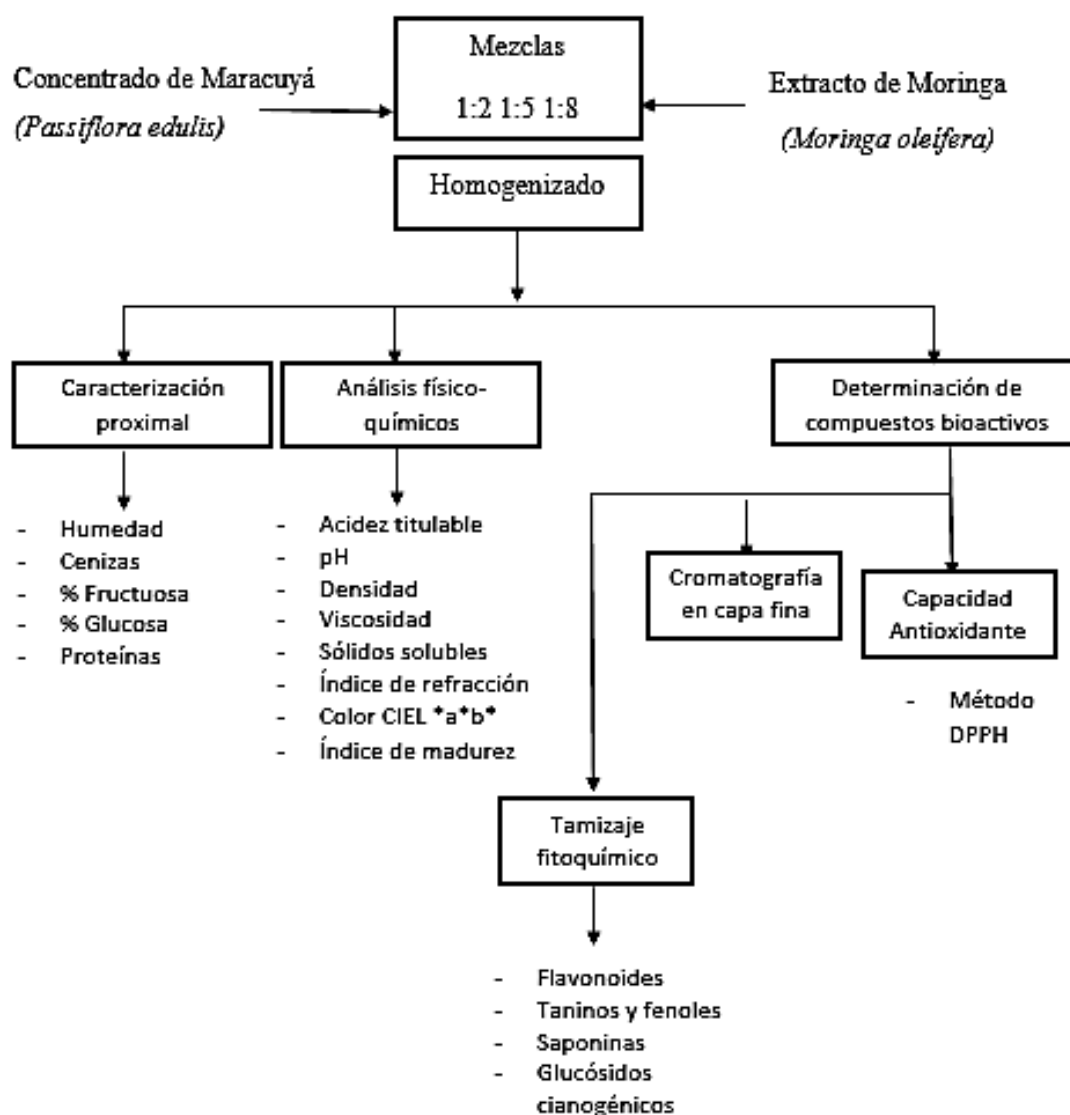
- Estufa
- Balanza analítica
- Agitador magnético Velp Scientifica
- Vortex Mixer VM – 300
- Potenciómetro Oakton 2700
- Cocineta de laboratorio
- Mufla
- Agitador
- Refractómetro Abbemat 200 Antoon Par
- Espectrofotómetro Shimadzu, UV mini -1240
- Colorímetro de reflectancia Chroma meter CR – 410
- Viscocímetro rotacional Fungilab

2.6.1.4. Otros materiales

- Tijeras
- Papel periódico
- Papel aluminio
- Toallas absorbentes
- Fundas plásticas

2.6.2. Protocolo general de la investigación

Figura 12. Parámetros evaluados



Fuente: López, 2015.

2.7. MÉTODOS

2.7.1. Composición proximal

Según la metodología de Silva (2008), se caracterizaron y analizaron las muestras individuales de maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleifera*) y sus mezclas a diferentes concentraciones (1:2 1:5 y 1:8), siendo el concentrado de maracuyá la base de dichas mezclas. Los análisis que se realizaron se describen a continuación:

a) Determinación de humedad

El contenido de la humedad de los alimentos es de gran importancia por varias razones pero su determinación exacta es muy difícil. El agua se encuentra en los alimentos en tres formas: (Silva, 2008)

- Como agua de combinación
- Como agua absorbida, y
- En forma libre, aumentando el volumen.

Para el procedimiento se pesó independientemente 10 g de cada muestra en cápsulas de porcelana, posteriormente, las muestras se secaron en la estufa al vacío, a 105 °C durante 3 horas hasta obtener un peso constante; transcurrido el tiempo, se colocaron en un desecador de campana durante 20 min, y posteriormente se procedió a pesar. Los resultados se obtienen mediante diferenciación de pesos con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{perdida de peso de la muestra} \times 100}{\text{peso de la muestra}}$$

b) Determinación de cenizas

Se llevaron a la mufla muestras de 5 g de cada muestra en diferentes crisoles a una temperatura de 500 °C. Las muestras se calcinaron hasta que las cenizas fueron blancas o ligeramente grises, posteriormente, se llevaron a un desecador durante 20 min. Finalmente los resultados se obtuvieron por diferenciación de peso.

c) Determinación de proteínas por el método de Lowry

La concentración de proteínas se determinó a través del método calorimétrico propuesto por Lowry. Se prepararon diluciones en agua destilada de 1000, 100 y 10 de la muestra problema. Se tomó de la última dilución (0,05 – 0,1 – 0,2 – 0,3 mL); se adicionaron (0,95 – 0,9 – 0,8 – 0,7 mL) de agua destilada y 5 mL de reactivo de Lowry (carbonato sódico al 2% en NaOH 0,1 N, sulfato cúprico al 1% tartrato sódico – potásico al 2%). Luego se agitaron con un Vortex (Mirtex VM – 300) durante 30 s y se dejaron reposar durante 15 min. A continuación, se añadió 0,5 mL de reactivo de Folin – Denis, se agitó energéticamente en un Vortex Mixer (VM – 300) y se dejó reposar durante 30 min.

Por último, se leyeron las muestras por espectrofotometría (Shimadzu, UV mini – 1240) a una longitud de onda de 500 nm y los valores obtenidos se extrapolaron a una curva de patrón previamente elaborado con albúmina. Los valores se expresaron en mg/mL.

d) Determinación de glucosa y fructosa

Se prepararon las muestras con tres diferentes concentraciones 1:2 1:5 1:8, el análisis se realizó con el refractómetro Abbemat 200 en donde se tomó 5 mL de cada una de las concentraciones indicadas y se colocó en el prisma del refractómetro a una temperatura de 25 ° C, proyectando los resultados en porcentaje de glucosa y fructuosa.

2.7.2 Análisis físico-químicos

a) Determinación de pH

La medición se realiza con el potenciómetro que debe estar calibrado con soluciones buffer pH 4,7; o 10. Se mide el potencial de H (hidrógeno), por inmersión de los electrodos del equipo en la muestra, debe ser a la misma temperatura del buffer.

Para el procedimiento se transfieren 10 mL de la muestra, a un vaso de precipitación de 25 mL, y con el potenciómetro calibrado se mide el pH a una temperatura de 25 °C.

b) Determinación de acidez titulable.

De cada muestra se tomó una alícuota de 5 mL (concentraciones 1:2 1:5 1:8). Luego se transfirieron a un Erlenmeyer de 250 mL de capacidad que ha sido tarado, hallando su equivalencia en peso, con una probeta se añadió 50 mL de agua destilada libre de CO₂, agitando hasta completar la solución, luego se adiciona 3 gotas del indicador Fenolftaleína y finalmente se tituló con una solución valorada 0,1 N de NaOH, hasta la aparición de una débil coloración rosada persistente, que indico el punto final de titulación. Para la obtención de los resultados se utiliza la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Acidez total} = \frac{\text{ml de sol. de NaOH} \times N \times 0,064 \times 100}{\text{Peso de la muestra}}$$

N= Normalidad del hidróxido de sodio

0,064= meq del ácido cítrico

c) Determinación de densidad

Para determinar este parámetro se utilizó la picnometría, que relaciona la masa de un volumen determinado de muestra a 20 °C y la masa del mismo volumen de agua destilada a la misma temperatura. Para ello, se pesa el picnómetro vacío. Luego se pesa el picnómetro lleno de agua destilada, se seca bien sin dejar residuos, se procede a colocarlo en la balanza durante 5 min. Finalmente, se procedió a pesar el picnómetro lleno de la muestra.

d) Determinación de viscosidad

Para determinar la viscosidad de las muestras se utilizó un viscosímetro rotacional Fungilab, con el manejo del husillo L1 y una velocidad de corte de 100 rpm.

e) Determinación de sólidos solubles

Se midió los sólidos solubles sobre la muestra problema, a una temperatura de 25 °C con un refractómetro Abbemat 200 y se expresaron como °Brix.

f) Índice de refracción

Se tomó una muestra de 5 mL y se colocó sobre el prisma del refractómetro Abbemat 200, el cual evaluó el índice de refracción en porcentaje.

g) Parámetros de color por el modelo CIEL*a*b*

Esta técnica se basa en determinar en una muestra hasta qué punto el color diverge del patrón de calibración, que es la pantalla blanca, tanto en términos colorimétricos como en la aceptabilidad de coincidencia visual. Las medidas de color se efectuaron sobre el fruto entero de maracuyá, en la muestra seca de moringa y en las concentraciones acuosas, en un colorímetro de reflectancia Chroma meter CR-410 provisto por una fuente de iluminación C, D65, la cual incidió sobre la muestra a 45 °C y el observador a 0 °C.

Para ello se colocó 10 mL de la muestra obtenida en un vaso de precipitado. Se procedió a medir las diferentes concentraciones colocando el vaso en el tubo de proyección de luz,

de igual manera se tomaron dos frutos al azar midiendo su color en diferentes partes del endocarpio.

Los resultados se interpretaron de acuerdo a los cambios de color en cada parámetro (ΔL^* , Δa^* , Δb^*) y la diferencia total de color (ΔE^*), con respecto a las muestras estudiadas.

h) Determinación del índice de madurez

El índice de madurez se determinó como la relación entre los sólidos solubles y la acidez titulable y fue expresado como °Brix/g ácido cítrico. Los sólidos solubles se midieron sobre la pulpa del fruto con un refractómetro Abbemat 200 y se expresaron como °Brix. La acidez titulable se midió mediante una titulación con una solución estandarizada de NaOH 0,1 N. La acidez titulable se expresó en g de ácido cítrico. El índice de madurez se define como:

$$\text{Índice de madurez (IM)} = \frac{\text{sólidos solubles}}{\text{acidez}}$$

2.7.3 Determinación de compuestos bioactivos

a) Tamizaje fitoquímico

Determinación de flavonoides

Para su determinación se empleó el ensayo Shinoda, según metodología citada por Miranda (2002). Para ello, la muestra se diluyó con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado unas virutas de cinta de magnesio metálico. Posteriormente, se sedimentó durante 5 minutos, luego se añadió 1 mL de alcohol amílico, se mezclaron las fases y se dejó reposar hasta que se separaron ambas fases.

La presencia de flavonoides se considera positiva si el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja o rojo intenso en todos los casos.

Determinación de fenoles y taninos

Mediante el ensayo del cloruro férrico se reconoció la presencia de compuestos fenólicos y taninos. Si el extracto se realiza con etanol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. Se colocó en dos tubos de ensayo 5 mL de extracto etanólico y acuoso individualmente, y se le adicionó 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en

solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0,9% en agua), un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

- Desarrollo de una coloración rojo – vino, compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos.

Determinación de saponinas

El ensayo Shinoda permite reconocer la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica. Para ello, se tomó una alícuota de 5 mL y se agitó la muestra en un Vortex Mixer (VM - 300), durante 30 segundos. Finalmente, se dejó reposar 5 minutos, se midió la altura de la espuma al 0,1 cm más cercano.

Determinación de glucósidos cianogénicos

Según Miranda (2002), el ensayo de Grignard permite reconocer la presencia de los gases cianhídricos provienen de glucósidos cianogénicos que contienen las plantas en distintas dosis. Para ello, se colocó 5 mL de muestra problema en un Erlenmeyer y se adicionó 25 mL de agua. Luego se le añadió 1 mL de cloroformo, se cubrió con papel pricosado. Finalmente, se dejó calentar a 35 °C en una estufa durante 3 horas, se observó la presencia de cambios de coloración del papel en ese tiempo, si no presentó variación puede afirmarse la ausencia de los glucósidos cianogénicos. Se declara positivo el ensayo si el papel presenta cambios de color amarillo a tonalidades ligeramente rojas.

b) Cromatografía en capa fina

Se realizó la caracterización de compuestos antioxidantes, en el extracto acuoso y etanólico según la metodología de Aldana y Guayasamín (2014). Se tomaron muestras de los extractos y se sembró con un tubo capilar sobre la placa cromatográfica y, con el sistema cloroformo: metanol (1:1) como solvente en un tanque cromatográfico, se colocó la placa y se dejó que ascienda el solvente; una vez que el solvente se detuvo, se extrajo la placa del tanque cromatográfico, se dejó secar, se reveló con solución vinílica, ácido sulfúrico y con luz UV a una de longitud de onda de 365 nm, se calentó en un agitador magnético Velp Scientifica (HSC F20510101).

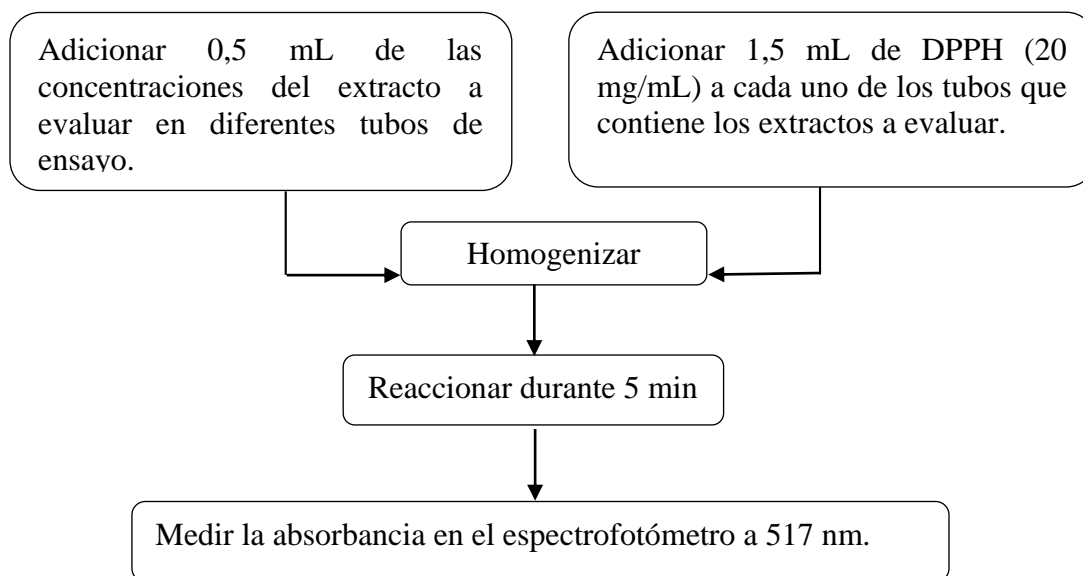
c) Determinación de la capacidad antioxidante

Método DPPH (2-difenil-1-picril hidrazilo)

Se preparó una curva estándar de calibración con ácido ascórbico, para evaluar la capacidad antioxidante. Para ello, se pesó 100 mg de ácido ascórbico y se aforó a 25 mL con agua destilada en un balón volumétrico, con una concentración para la curva de calibración de (10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 200, 1000 μ M) respectivamente.

Se prepararon 2000 mg/mL de reactivo DPPH disolviendo 10 mg de DPPH en un balón volumétrico de 50 mL hasta el enrase con metanol. De esta solución se tomó 1 mL y se llevó a un balón volumétrico de 100 mL hasta el enrase y se obtuvo una solución de 20 mg/mL. Luego se tomaron 0,5 mL de cada una de las concentraciones preparadas y se le adicionó 1,5 mL del reactivo, posteriormente se homogenizó y se realizó la medición del valor de absorbancia a 517 nm, como se muestra en la Figura 13.

Figura 13. Evaluación de la capacidad antioxidante por el radical DPPH (2-difenil-1-picril hidrazilo)



Fuente: López, 2015

2.8 Hipótesis general

La mezcla óptima (maracuyá y moringa) contiene compuestos nutricionales y compuestos bioactivos que atribuyen a la mezcla la capacidad antioxidante, por lo cual puede ser utilizada en el futuro para la elaboración de una bebida funcional.

a. Hipótesis nula (H_0)

Los resultados de los análisis demuestran que no existen compuestos nutricionales y bioactivos que aumenten su potencialidad en ninguna de las mezclas (1:2 1:5 1:8).

b. Hipótesis alternativa (H_1)

Los resultados de los análisis demuestran que existen compuestos nutricionales y bioactivos que aumentan su potencialidad alguna de las mezclas (1:2 1:5 1:8).

2.9 Descripción de las variables

2.9.1 Variables independientes

Concentrado de maracuyá

Extracto de moringa

2.9.2 Variables dependientes

Proteínas

Capacidad antioxidante

2.10 Interpretación de datos y análisis estadístico

El diseño experimental que se ejecuto fue completamente al azar de tres niveles, obteniendo nueve unidades experimentales. Los resultados se sometieron a un análisis de (ANOVA) utilizando el software estadístico “*Statgraphics*”, para determinar cuál de todas las mezclas (1:2, 1:5, 1:8) será la óptima con resultados positivos en composición nutricional (proteínas) y su efecto antioxidante con probabilidad ($p < 0.05$), para determinar la diferencia significativa en cada uno de las concentraciones (1:2, 1:5, 1:8) se utilizó la prueba de post hoc Tukey con un intervalo de confianza del 95%.

3 RESULTADOS Y DISCUSIONES

Las mezclas a diferentes concentraciones obtenidas fueron caracterizadas realizándose los análisis físicos químicos, determinación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante.

Para los resultados, las muestras fueron analizadas de manera independiente, determinándose de manera primordial el rendimiento de cada una de ellas; la maracuyá presento una gran variabilidad en cuanto a tamaño y peso; con un valor promedio en peso de 160 g, longitud de 7,53 cm y diámetro de 7,03 cm aproximadamente. Para las hojas de moringa el valor promedio en peso fue de 48 g, su rendimiento es favorable debido a que su contenido en humedad es bajo.

Tabla 7. Porcentaje de rendimiento de las muestras de maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*)

Muestra	Determinación cuantitativa			
	Método de extracción	Masa inicial (g)	Extracto (g)	Rendimiento (%)
<i>P. edullis</i>	Acuoso	86	40	46,5
<i>M. oleífera</i>	Hidroalcoholica	48	43	89,6

Rendimiento porcentual= (Extracto /masa inicial)*100

El tratamiento enzimático con Rapidase® para la obtención del concentrado de maracuyá (*Passiflora edulis*) presentó resultados favorables en cuanto a rendimiento, con lo que se demuestra su efectividad.

3.1.Composición proximal

3.1.1. Humedad y cenizas

Para la determinación proximal de humedad y cenizas se analizaron únicamente las muestras puras de esta manera se obtuvo resultados de la cantidad de agua y la cantidad de minerales presentes en las muestras.

Tabla 8. Porcentaje de humedad y cenizas en el concentrado de maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleifera*)

Muestra	Determinación cuantitativa	
	Humedad (%)	Cenizas (%)
<i>P. edulis</i>	76,05	0,73
<i>M. oleifera</i>	40,86	9,58

En la tabla 8, se presentan los valores de humedad y cenizas del análisis proximal compuestas en las muestras expresadas en porcentaje. Los valores indican que existen valores muy significativos en cuanto a cenizas en las hojas secas de moringa con el 9,58 %; confirmando que las hojas de moringa son una posible fuente importante de minerales, entre ellos el hierro, calcio y potasio como menciona Fuglie (2001).

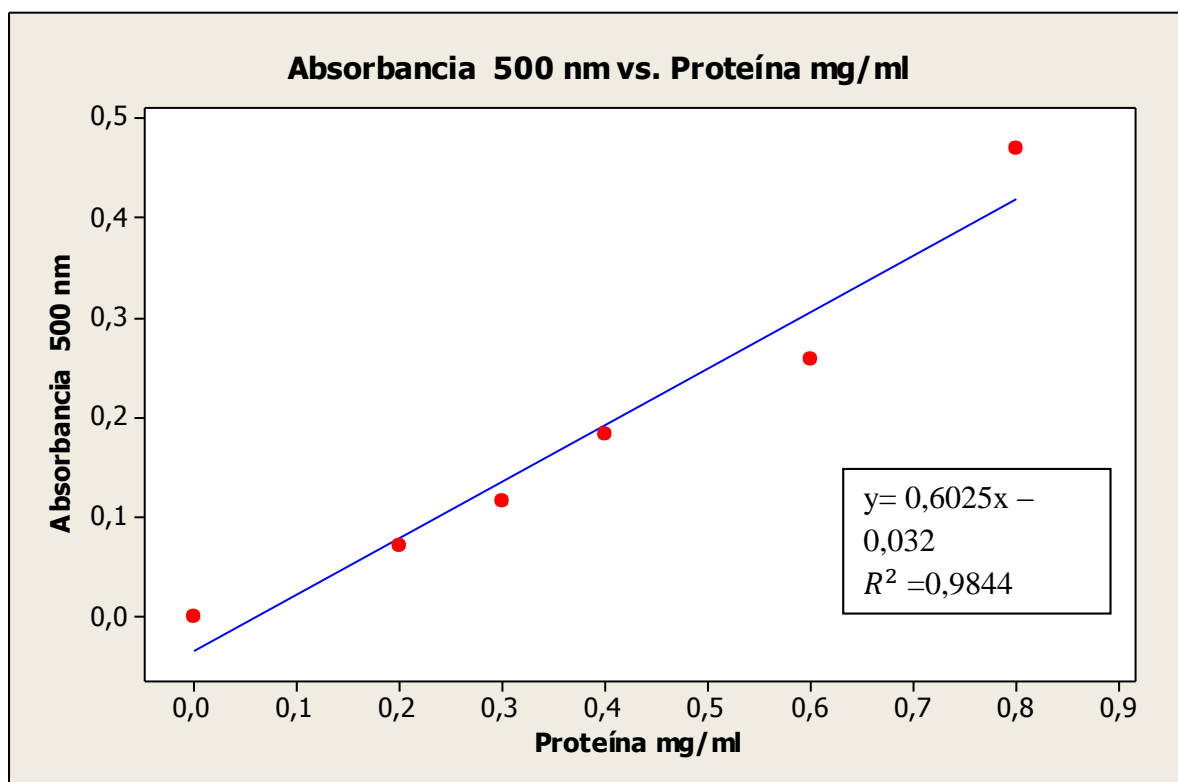
3.1.2. Proteínas

El análisis del contenido de proteínas se lo realizó mediante el método de Lowry, para ello se obtuvo la curva de calibración en donde los valores obtenidos se extrapolaron a una curva patrón previamente elaborada con albúmina (Tabla 9). Los valores fueron los siguientes los cuales se expresaron mediante una gráfica.

Tabla 9. Concentración de albúmina para determinar el contenido de proteínas

Tubo	Albumina (mL)	Agua (mL)
0	0,0	1,0
1	0,2	0,8
2	0,3	0,7
3	0,4	0,6
4	0,6	0,4
5	0,8	0,2

Figura 14. Curva patrón con albúmina para cuantificación de proteínas



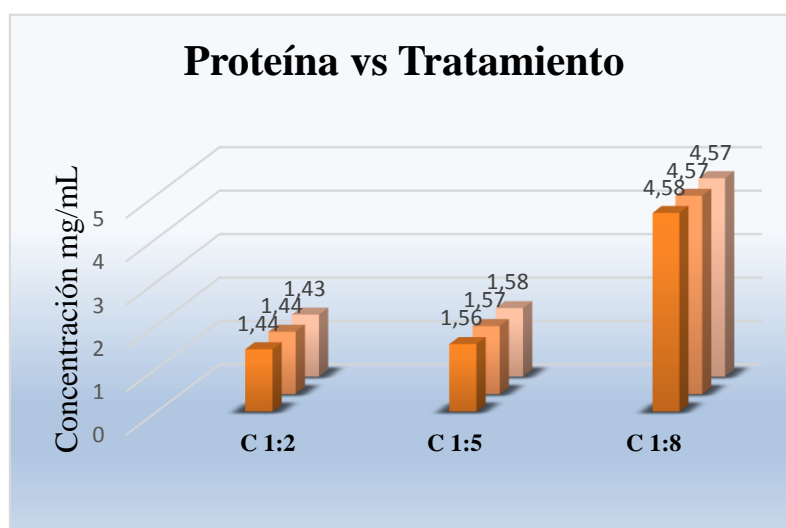
En la figura 14, se muestra la curva patrón de Lowry para determinar la concentración de proteínas en las muestras y en las diferentes concentraciones. (1:2 1:5 1:8). Esta curva de calibración representa un margen lógico de concentración para la interpolación de resultados.

Tabla 10. Unidades experimentales expresando la concentración de proteínas en cada una de las mezclas diluidas 1:100

Tratamiento	Proteína mg/mL	Tratamiento	Proteína mg/ml	Tratamiento	Proteína mg/mL
A_1B_2	1,44	A_1B_5	1,56	A_1B_8	4,58
A_1B_2	1,44	A_1B_5	1,57	A_1B_8	4,57
A_1B_2	1,43	A_1B_5	1,58	A_1B_8	4,57

En la tabla 10 muestra el contenido de proteínas de las nueve unidades experimentales, siendo $A_1B_2(C1:2)$, $A_1B_5(C1:5)$, $A_1B_8(C1:8)$, las mezclas que se obtuvieron con diferentes concentraciones de las mezclas de maracuyá (*Passiflora edullis*) y moringa (*Moringa oleífera*). Para este análisis se utilizaron diluciones de 1:100 puesto que los valores de absorbancia resultaron más altos que la curva de calibración.

Figura 15. Concentración de proteína en cada una de las mezclas



En la figura 15, se demuestra la diferencia que existe entre el contenido de proteína en cada una de las mezclas $A_1B_2(C1:2)$, $A_1B_5(C1:5)$, $A_1B_8(C1:8)$, de las cuales, la mezcla que corresponde a la concentración de 1:8 con mayor contenido de extracto de moringa (*Moringa oleífera*), posee mayor contenido de proteína con un valor de 4,575 mg/mL

Como lo afirma Alfaro (2008), los principales aportes hechos por la moringa en términos de macro y micronutrientes, se encuentran en las hojas, que al igual que las vainas frescas y los frutos muestran un valor considerable de un 30 % de proteínas en base seca, razón por la que se conoce que las hojas presentan mayores fuentes de nutrientes que las vainas.

3.1.3. Fructosa y Glucosa

Para este análisis se utilizó el refractómetro Abbemat 200, en la tabla 11 se muestran los valores expresados en base húmeda por triplicado con desviación estándar, de fructosa y glucosa en cada una de las muestras y concentraciones (1:2 1:5 1:8).

Tabla 11. Fructosa y Glucosa de las muestras expresadas en cantidades porcentuales

Muestra	Fructuosa (%)	Glucosa (%)
Maracuyá	13,82±0,26	13,24±0,22
Moringa	22,60±0,10	22,39±0,22
C 1:2	19,12±0,10	18,64±0,10
C 1:5	19,68±0,03	18,95±0,01
C 1:8	23,21±0,01	23,00±0,01

Como se puede apreciar en la tabla 11, las muestras analizadas demuestran una diferencia en cuanto a porcentaje de fructosa siendo el porcentaje más elevado la mezcla 1:8 (23,21 %), dado que el extracto puro de moringa (*Moringa oleífera*), contiene un alto valor en cuanto al mismo componente (22,60 %), es por este motivo la razón de su valor elevado, debido a que el concentrado de maracuyá (*Passiflora edulis*), contiene un valor bajo que no incide significativamente en la mezcla (13,24 %) según los resultados obtenidos de las concentraciones restantes.

Para el contenido de glucosa presente en las muestras y las mezclas de maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*), se demostró de la misma manera que la concentración 1:8 es aquella con mayor porcentaje de glucosa (23,00 %). Lo que finalmente indica que la muestra de moringa pura contiene un alto valor edulcorante (22,39 %) que afecta a la mezcla de forma beneficiosa.

3.2. Análisis físico-químico

3.2.1. pH, acidez y sólidos solubles

Tabla 12. Determinación de pH, acidez y sólidos solubles en las diferentes muestras

Muestra	pH	Acidez (g/100g)	S. solubles °Brix
Maracuyá	3,12±0,03	0,57±0,02	13,76±0,01
Moringa	5,60±0,03	0,53±0,02	22,29±0,01
C 1:2	3,33±0,03	0,56±0,02	19,42±0,02
C 1:5	3,48±0,02	0,55±0,02	19,63±0,02
C 1:8	3,74±0,02	0,54±0,03	23,13±0,01

Según la norma del Servicio Ecuatoriano de Normalización (INEN) NTE INEN 2337:2008 para jugos de fruta y concentrados establece que el valor de pH debe ser menor a 4,5, mientras que para los sólidos solubles (°Brix) debe poseer como mínimo 23 °Brix, esto indica que los resultados obtenidos se aproximan a los niveles óptimos que ordena el reglamento, para el caso del extracto puro de moringa se hará una excepción puesto a que su pH sobrepasa el límite del reglamento (5,60), este es un factor limitante para el deterioro y conservación de las bebidas.

El concentrado puro de maracuyá presenta una característica propia del fruto en cuanto a su contenido de acidez de 0,57 g en la pulpa fresca, los valores que permite la norma NTE INEN 2337:2008 son de 0,5 g, lo que otorga un beneficio cuando se trata de conservar un alimento debido a que disminuye la susceptibilidad de este producto al ataque de los microorganismos, pero no es significativo para los niveles de acidez de las concentraciones debido a que sus valores están por debajo de lo normal.

3.2.2. Índice Refracción, densidad y viscosidad

Tabla 13. Determinación de índice de refracción, densidad y viscosidad en las muestras

Muestra	Índice de refracción (Nd)	Densidad (g/mL)	Viscosidad (mPas)
Maracuyá	1,353	1,066	55
Moringa	1,37	1,040	30
C 1:2	1,36	1,054	42
C 1:5	1,37	1,049	40
C 1:8	1,37	1,043	38

La tabla 13, detalla los valores de índice de refracción expresadas en nD (n veces más grande que el número de onda D), que como indica la tabla 14 el contenido de sólidos solubles es proporcional al índice de refracción.

La densidad se ve afectada directamente por el contenido de maracuyá en cada una de las concentraciones, puesto que en la de mayor concentración de maracuyá 1:2 presenta una densidad de 1,054 g/mL, mientras que aquella que posee menor contenido de maracuyá 1:8 presentó una densidad de 1,043 g/mL.

Tomando en consideración valores de las muestras y las concentraciones 1:2, 1:5 y 1:8 de las mezclas para la determinación de la viscosidad se obtuvieron valores entre 60mPas-40mPas que se encuentran en el rango establecido por las normas INEN. La viscosidad es una característica muy importante en el procesamiento de jugos de fruta, porque influye en la aceptación del producto por parte del consumidor.

3.2.3. Parámetros de color

La determinación del color se realizó con el diagrama de cromaticidad de espacio de color $L^*a^*b^*$, dirigiéndose mediante las coordenadas emitidas por el colorímetro de reflectancia Chroma meter CR-410, resultantes de cada muestra.

Tabla 14. Parámetros de color de cada muestra

Muestra	L*	a*	b*	ΔE^*
Maracuyá	48,35	7,06	26,7	45,26
Moringa	28,39	1,14	-0,48	60,61
1:2	29,34	0,75	0,81	59,53
1:5	32,50	-0,80	4,85	56,09
1:8	35,86	-1,13	9,08	52,74

Las coordenadas obtenidas indican que el color de la pulpa fresca de maracuyá se debió principalmente a la contribución amarilla (valor positivo de b) y en menor proporción la contribución roja (valor positivo de a) y la combinación de ambos arrojo como resultado un color amarillo intenso con tonalidades anaranjadas, debido principalmente la presencia de carotenoides y flavonoides que son generalmente de color amarillo.

En el caso de la moringa los valores negativos de b y en mayor proporción los valores de a; dieron como resultado un verde muy opaco, este color es característico de las hojas de plantas debido a la clorofila.

En cuanto a los cambios de color de las concentraciones muestra un incremento en los valores de b y un decrecimiento en los valores de a, debido a las mezclas entre maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*).

3.2.4. Índice de madurez (IM) de frutos del maracuyá (*Passiflora edulis*)

Este análisis se realizó con el propósito de indicar la madurez y el punto óptimo de cosecha.

Tabla 15. Índice de madurez (IM) de frutos de maracuyá (*P. edulis*)

Estado	S. solubles °Brix	Acidez (g/100g)	IM
1	10,44	1,70	6,14
2	13,76	0,57	24,14

1: Fruto inmaduro, 2: Fruto maduro

Los resultados expresados en la tabla 15, empleados para dos tipos de frutos, muestran que el contenido de sólidos solubles (°Brix) aumentó, mientras que la acidez titulable disminuyó, con ello el índice de madurez aumentó progresivamente.

Con ello se confirma el trabajo de Pinzón *y col.*, (2007), quien afirma que los grados °Brix incrementan a medida que el fruto madura. En los frutos climatéricos el aumento del índice de madurez ocurre cuando alcanzan la tasa respiratoria máxima y desdoblan rápidamente sus reservas (ácidos orgánicos) como respuesta al incremento de su metabolismo y, en efecto, el índice de madurez aumenta.

3.3.Determinación de compuestos bioactivos

Los compuestos bioactivos que se detectaron en las muestras y las diferentes concentraciones 1:2 1:5 y 1:8 son de naturaleza fenólica tales como flavonoides, taninos y/o fenoles y la presencia de saponinas. Los ensayos en todos los casos fueron confirmados a través de la cromatografía en capa fina recomendada por Aldana y Guayasamín (2014). Además de la determinación de compuestos cianogénicos que están compuestos por un azúcar y ácido cianhídrico (HCN) que, a través de una enzima (β -glucosidasa), pueden separarse quedando disponible el HCN para ejercer su efecto tóxico, este análisis se lo realizó con el objetivo de asegurar el consumo de hojas de moringa sin que afecte al consumidor, debido a que el uso de algunas plantas está prohibido por el efecto tóxico que genera.

3.3.1. Tamizaje fitoquímico

Tabla 16. Determinación cualitativa de flavonoides, fenoles, saponinas y compuestos cianogénicos

Compuestos	Muestras				
	Maracuyá	Moringa	C 1:2	C 1:5	C 1:8
Flavonoides	+	-	+	-	-
Taninos y Fenoles	+	++	+	+	++
Saponinas	-	+	-	+	+
Glucósidos cianogénicos	-	-	-	-	-

(++) Alta evidencia, (+) Evidencia, (-) Ausencia

Estos resultados que se presentan en la tabla 16, muestran que si existe una importante fuente de metabolitos secundarios, especialmente los compuestos de Taninos y saponinas, rescatando de esta manera que la concentración 1:8 ha demostrado poseer compuestos antioxidantes notorios, seguido de la muestra pura de moringa (*Moringa oleífera*) que dio como resultado positivo a la presencia de estos dos compuestos.

El contenido de flavonoides se evidenció positivamente en el caso de la muestra de maracuyá pura, para ello la muestra paso de un color amarillo a un color naranja intenso.

Respecto al análisis de saponinas, los resultados en la prueba de espuma par la concentración 1:8 se observó la presencia de espuma abundante y estable, mientras que los resultados de la concentración 1:2 mostraron valores negativos puesto que fue el mismo caso para la muestra de maracuyá pura.

De acuerdo al contenido de glucósidos cianogénicos, la pulpa de maracuyá, especialmente el fruto verde contiene glucósidos cianogénicos en niveles tan bajos que no es de importancia toxicológica, en cuanto a las hojas de moringa no se evidencio ni la mínima presencia de estos compuestos. Es por esto que de acuerdo a los resultados

negativos obtenidos por el ensayo de Grignard, se determinó que la pulpa de frutos maduros no contiene dichos compuestos, clasificando a la pulpa de maracuyá y a las hojas de moringa en estudio no tóxica.

3.3.2. Cromatografía en capa fina

Este análisis se lo realizó usando las cinco muestras en estudio; muestras puras (maracuyá y moringa) y concentraciones (1:2 1:5 y 1:8), para ello se analizaron minuciosamente aquellas muestras que confirmaron la presencia de compuestos bioactivos como lo muestra la tabla 18.

La corrida de las muestras sobre la placa, nos permite identificar que hay compuestos distintos entre las cinco poblaciones, en la banda 4 que pertenece a la muestra de moringa pura, siendo la muestra en la que se evidencio mayores compuestos, mientras que en la muestra de maracuyá pura se ven disminuidos, para las concentraciones es evidente y muy concordante que la concentración 1:8 se observan valores significativos a diferencia del resto de concentraciones (1:2 1:5).

Tabla 17. Valores Rf de las muestras y las diferentes concentraciones

Número	Nombre de la muestra	Color de la mancha	Rf
1	1:8	Café	0,38
2	1:5	Café	0,30
3	1:2	Café	0,24
4	Maracuyá	Amarillo	0,42
5	Moringa	Verde	0,81

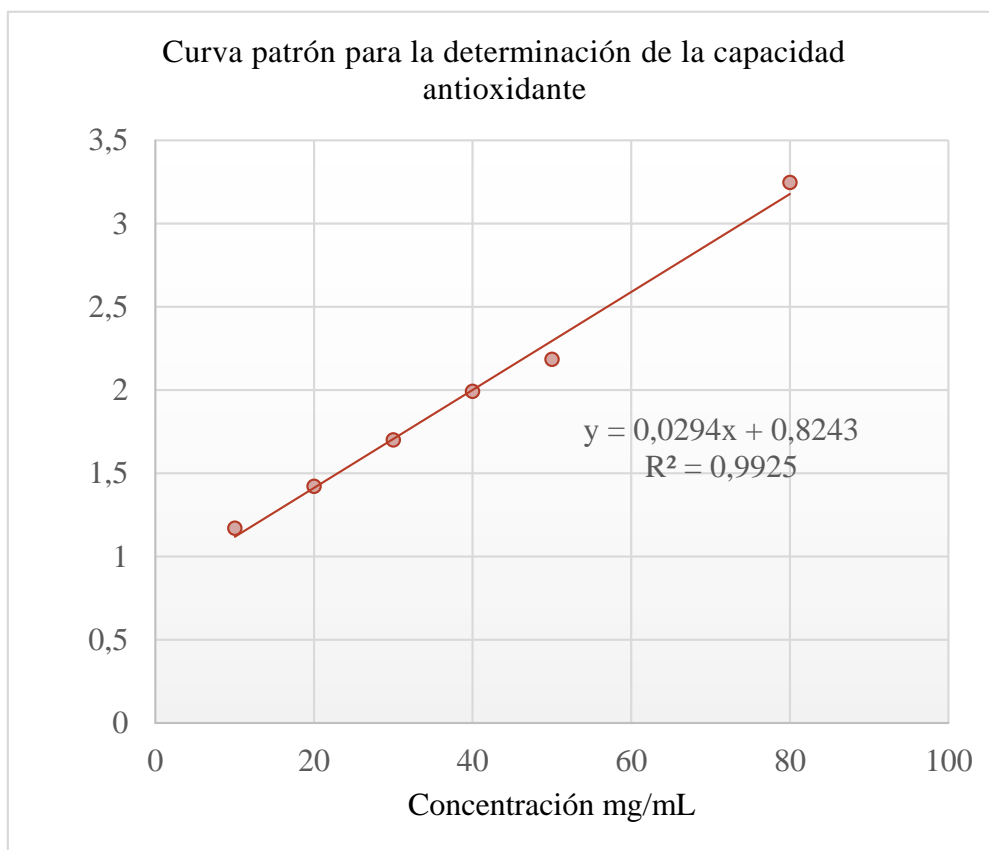
Rf= distancia recorrida por el compuesto (X) / distancia recorrida por el eluyente (Y)

En la tabla 17, se muestran los valores de Rf (factor de retardo de una muestra) de acuerdo a la distancia recorrida de la muestra, por lo cual en cada una se evidencio la presencia de más de dos compuestos lo que significa que las muestras contienen metabolitos secundarios.

3.3.3. Actividad antioxidante

Para la determinación de actividad antioxidante se utilizó el método del DPPH (2-difenil-1-picril hidralizo), por el cual se analizó el efecto inhibitor del radical DPPH en las concentraciones de 1:5 y 1:8, debido a que en estas dos los resultados expuestos en los análisis de cromatografía fina (Tabla 17) se destacaron algunos compuestos como metabolitos secundarios, además de los resultados de la Tabla 15, que aseguran la presencia de compuestos bioactivos considerados como antioxidantes. Para expresar los resultados de la actividad antioxidante fueron expuestos en porcentajes de inhibición lo que corresponde a la cantidad de radical DPPH neutralizado por el extracto a una determinada concentración.

Figura 16. Curva patrón con ácido ascórbico para determinar la capacidad antioxidante



Los valores obtenidos por este método se reportan como IC_{50} (concentración inhibitoria máxima media) que corresponde a la concentración necesaria para inhibir en un 50% la absorbancia inicial del radical DPPH; los valores más bajos del IC_{50} fueron del ácido

ascórbico obteniendo un valor de 123,689 $\mu\text{g/mL}$. Para ello se utilizó la ecuación de regresión simple, obtenida de la relación del porcentaje de inhibición de radicales libres DPPH y la concentración de los extractos de estudio, incluido el valor de IC_{50} del ácido ascórbico.

Tabla 18. Porcentaje de inhibición y capacidad antioxidante del ácido ascórbico y concentraciones 1:5 y 1:8

Muestra	% Inhibición	Concentración mg a.a./g	IC_{50} $\mu\text{g/mL}$
Ácido ascórbico	44	116,43	123,689
C 1:5	36,6	116,57	130,345
C 1:8	42,4	116,78	139,531

Con estos resultados se puede determinar que ambas mezclas a diferentes concentraciones de 1:5 y 1:8, contienen compuestos bioactivos con altas capacidad antioxidante especialmente para la concentración 1:8 que presento un valor de 42,4 % de inhibición muy cercano al valor 44 % de inhibición del ácido ascórbico.

3.4. Análisis estadístico

Mediante los resultados obtenidos con el método colorimétrico de Lowry, y el método del DPPH, se determinó cual es la concentración de proteínas y la presencia de compuestos bioactivos con alto valor antioxidante presentes en cada una de las mezclas (1:2 1:5 1:8), empleando el software “Statgraphics”, los datos se evaluaron con el análisis de varianza ANOVA de una vía y la prueba de Tukey HSD con un nivel de probabilidad de $p < 0,05$.

3.4.1.1. Análisis de varianza del contenido proteico en las mezclas de maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*)

Tabla 19. Análisis de varianza (ANOVA) para las mezclas con diferentes concentraciones (1:2 1:5 1:8) de maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*)

Fuente	Grado de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Prueba F	Valor p
Factor	2	18,50987	9,25493	6663,55	0,000
Error	6	0,00833	0,00139		
Total	8	18,51820			

Dado que el valor de p de la prueba F es menor de 0,05 hay una diferencia estadísticamente significativa entre las diferentes mezclas a concentraciones distintas de maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*).

Se realizó la comparación de la variabilidad inter-grupos y la variabilidad intragrupos, con ello, se rechazó la hipótesis nula, dado que la variabilidad inter-grupo fue mayor, utilizando como patrón de comparación la variabilidad intra-grupo.

3.4.1.2. Prueba post hoc Tukey HSD del contenido proteico en las mezclas de maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*)

Tabla 20. Prueba post Hoc Tukey HSD para las diferentes concentraciones denominadas tratamientos.

T	Mezclas	N	Media	Contraste	Diferencia
1	1:2	3	1,5367	T1-T2	-0,0333
2	1:5	3	1,5700	T2-T3	*-2,9733
3	1:8	3	4,5433	T1-T3	*-3,0066

Las medias que comparten (*) son significativamente diferentes

Este método fue utilizado para discriminar las medias que tiene diferencia mínima significativa (HSD). Con este método, existe un riesgo de 5,0 % de llamar a uno o más pares significativamente diferente. Para ello queda demostrado que el tratamiento 3 el cual consiste en la concentración 1:8 contiene mayor cantidad de proteína.

3.4.1.3. Análisis de varianza de la capacidad antioxidante en las mezclas de maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*)

Tabla 21. Análisis de varianza (ANOVA) para las concentraciones 1:5 y 1:8

Fuente	Grado de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Prueba F	Valor p
Factor	1	126,57	126,57	126,57	0,000
Error	4	4,00	4,00		
Total	5	130,57			

Como se puede apreciar en la tabla 21, si existe diferencia significativa ($p < 0,05$) en los 2 tratamientos en el nivel de confianza del 95,0 %.

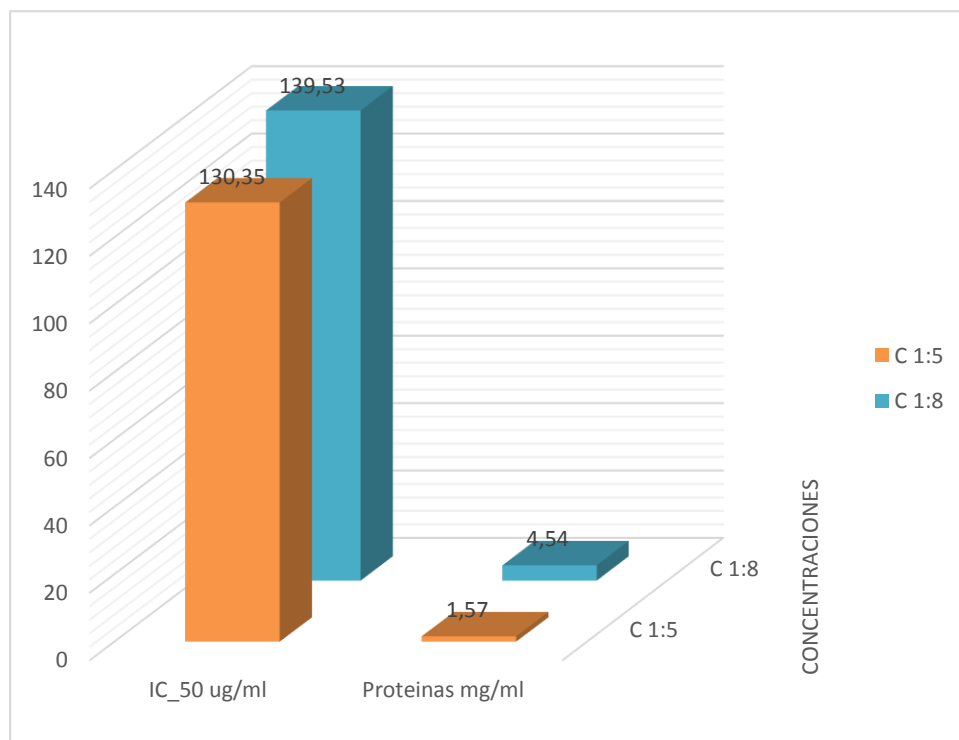
3.4.1.4. Prueba post hoc Tukey HSD de la capacidad antioxidante en las mezclas de maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*)

Tabla 22. Prueba de Hoc Tukey HSD para las concentraciones 1:5 y 1:8

T	Mezclas	N	Media	Contraste	Diferencia
1	1:5	3	130,35	T1 – T2	*-9,18
2	1:8	3	139,53		

En la tabla 22 se muestra la prueba Tukey de la capacidad antioxidante realizada solo dos de las tres concentraciones que rindieron mejores resultados (1:5, 1:8), mostrando una diferencia de medias en cada uno de los dos tratamientos.

Figura 17. Comparación de las mezclas de maracuyá y moringa a concentraciones de 1:5 y 1:8



En la figura 17 se encuentran los resultados ilustrados de las mezclas que han revelado valores positivos en cuanto al valor proteico y la capacidad inhibidora del radical DPPH de los compuestos antioxidantes (IC_{50}), siendo la mezcla 1:8 más favorable, debido a que su contenido proteico es de 4,54 mg/mL, mientras que la mezcla 1:5 contiene apenas 1,57 mg/mL, aproximadamente el 25,3 % de la cantidad total presente en la mezcla 1:8.

Es decir que la mezcla óptima es para la concentración 1:8, debido a que sus resultados fueron favorables para el efecto antioxidante y el valor proteico.

3.5. Verificación de la hipótesis

Mediante la interpretación de los análisis obtenidos de la determinación de la capacidad inhibidora del radical DPPH y el contenido proteico, se rechaza la Hipótesis nula (H_0) y por consiguiente se acepta la hipótesis alternativa (H_1), afirmando que si existen compuestos nutricionales (proteínas) y bioactivos (antioxidantes) que aumentan su potencialidad una de las mezclas de maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*).

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

Las formulaciones que se obtuvieron de las diferentes concentraciones tanto de maracuyá como moringa de 1:2, 1:5 y 1:8, estas mezclas fueron analizadas a nivel de laboratorio, obteniéndose excelentes resultados de las mezclas 1:5 y 1:8, cabe recalcar que también existieron resultados muy favorables para la muestra de moringa (*Moringa oleífera*) pura, pero no es posible rescatar esos valores en la presente investigación debido a que la base fundamental es la mezcla de ambos componentes (Maracuyá y Moringa).

De acuerdo a los análisis físico-químicos, el concentrado de maracuyá (*Passiflora edulis*) presentó un pH de 3,12, con un valor de acidez del 0,57 g de ácido cítrico, 13,76 °Brix, 1,066 g/mL de densidad y una viscosidad de 55mPas; en cuanto a los análisis de moringa (*Moringa oleífera*), presentó un pH de 5,60, acidez del 0,53 g de ácido cítrico, además 22,29 °Brix, 1,040 g/mL de densidad y una viscosidad de 30mPas, valores que para las mezclas resultan óptimos de acuerdo a las normas INEN para la formulación de jugos, debido a que no se sobrepasan los límites en cada una de las concentraciones.

En cuanto a los parámetros de color por el modelo CIEL a^*b^* y diferencia total de color (ΔE^*), los resultados fueron muy variables debido a la combinación de colores en cada una de las concentraciones 1:2, 1:5 y 1:8. La mezcla óptima presentó una ΔE^* de 52,74 que de acuerdo al diagrama de cromaticidad las coordenadas representan una tonalidad verde muy opaco.

El contenido nutricional (basado en proteínas) de la mezcla óptima 1:8 fue de 4,575 mg/mL, esto se debe puesto que esta formulación contiene más extracto de moringa (*Moringa oleífera*) que Maracuyá (*Passiflora edulis*), estos resultados son considerados debido a que las concentraciones 1:2 y 1:5 presentaron un descenso en su contenido proteico, a menor extracto de moringa menor concentración de proteínas.

Según los datos obtenidos la mezcla óptima fue aquella de concentración 1:8, debido a que mediante el método del DPPH, se indicó que esta mezcla obtuvo valores de IC_{50} de 139,531 $\mu\text{g/mL}$, mientras que la concentración restante (1:5) no demostró resultados muy significativos, en ambas concentraciones se reveló la existencia de saponinas, fenoles y taninos permitiendo así relacionar aún más el compuesto en estudio con la actividad antioxidante.

Los resultados de los diferentes análisis han determinado que la mezcla 1:8 posee propiedades antioxidantes y valor proteico, que podrán ser útiles en la posible elaboración de una bebida funcional.

4.2. RECOMENDACIONES

Realizar un análisis microbiológico a las diferentes concentraciones.

Realizar un estudio cuantificando el contenido de vitaminas A, C y E, un perfil de aminoácidos y la determinación de la calidad de la proteína en la mezcla de concentración 1:8.

Desarrollar una bebida funcional con mezclas de maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*) a concentraciones de 1:8 en base de pulpa de maracuyá, y comprobar la aceptabilidad del producto por parte de los consumidores.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Alcivar y Morales. (2010). Elaboración de una bebida hidratante a base de lactosuero y enriquecida con vitaminas. Escuela Superior Politécnica (ESPOL). Quito, Ecuador. Apartado 09-01-5863.

Alfaro, N.C. (2008). Rendimiento y uso potencial de Paraíso Blanco, *Moringa oleífera Lam* en la producción de alimentos de alto valor nutritivo para su utilización en comunidades de alta vulnerabilidad alimentario-nutricional de Guatemala. INCAP Guatemala, CONCYT, SENACYT, FONACYT. No. 26-2006. 135p.

Aldana, C. y Guayasamín, L. (2014). Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos (alcohólico y acuoso) de las hojas de *Ficus citrifolia* y caracterización química de los polifenoles. Tesis de pregrado. Universidad Politécnica Salesiana. Quito, Ecuador. 23 - 24p.

Alvarado, E. B. (2009). Análisis del costo de producción de jugo de maracuyá en envases de 250 mL, en la planta procesadora de frutas y hortalizas del instituto tecnológico "CALAZACON". Universidad Tecnológica Equinoccial, Santo Domingo de los Colorados - Ecuador. 13 - 46p.

Alvídrez, A.; González, B. E. y Jiménez, Z. (2002). Tendencias en producción de alimentos: alimentos funcionales. Salud pública y nutrición.

Avello, Marcia y Suwalsky, Mario. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Atenea (Concepc.) pp. 161-172.

Aymé Fernández-Calienes Valdés, Judith Mendiola Martínez, Lianet Monzote Fidalgo, y col., (2009). Evaluación de la toxicidad de extractos de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de *Artemia Salina L.* Instituto de Medicina Tropical "PREDRO KOURÍ" – Instituto de Farmacia y Alimentos. Rev. Cubana Med Trop 2009; 61(3): 254-8.

Biesalski HK, Dragsted LO, Elmadfa I, y col., (2009). Bioactive compounds: definition and assessment of activity. Nutrition 2009; 25(11-12):1202-1205.

Brand, W., y Cabrera, B. (1995). El uso de un método de radicales libres para evaluar la actividad antioxidante. *LWT-Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 18 (6). p.p. 25 - 30p

Bressani. (2007). Valor proteínico suplementario de la hoja de Moringa oleifera al maíz y al arroz. Guatemala.

Borras, C. (2013). Técnicas de medición, ABTS y DPPH. Obtenido el 29 de Marzc de 2015, de Slideshare: <http://es.slideshare.net/carlosborras/tecnicas-medicin-abts-dpph-tbars>

Comesaña R, García F, López R, y Simal G (2001) Bebidas enriquecidas con vitaminas, antioxidantes: Aspectos legales y estudio de su etiquetado nutricional, *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 3:3, 173-179, DOI: 10.1080/11358120109487726.

Chavely D, Restrepo S, Narvárez C, y Restrepo L. (2009). Extracción de compuestos con actividad antioxidante de frutos de guayaba cultivada en Vélez-Santander, Colombia. *Quim. Nova*, vol. 32, N°. 6, 1517-1522.

Croess, Rubelis y Villalobos, Nuris. (2008). Caracterización en cuanto a edad y altura de corte del moringo (*Moringa oleifera*) como uso potencial en la alimentación animal. Instituto Universitario de Tecnología de Maracaibo. Mención Agropecuaria. Maracaibo. [En línea]. http://www.moringa.es/pageID_7271377.html.

Falasca, Silvia y Bernabé, María A. (2008). Potenciales usos y delimitación del área de cultivo de *Moringa oleifera* en Argentina. *Revista Virtual de REDESMA*. p. 1. [En línea]. <http://revistavirt%20ual.redesma.org/vol3/pdf/investigacion/Moringa.pdf>.

FAO, (2010). Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición. Dirección de Alimentación y Nutrición Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Depósito de documentos de la FAO. Santiago Chile. Cap 13.

Foidl, N. (1999). Utilización del marango (*Moringa oleifera*) como forraje fresco para ganado. En: *Agroforestería para la alimentación animal en Latinoamérica*. (Eds. M.D. Sánchez y M. Rosales). Estudio FAO: Producción y Sanidad Animal No. 143. 341p.

Foidl, N., Makkar H.P.S. y Becker K. (2001). The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. What development potential for *Moringa* products, Nicaragua.

Fundación española para la ciencia y la tecnología FECYT. (2005). Alimentos Funcionales. Madrid, España: Fundación española para la Ciencia y la Tecnología. 12 - 13p.

Furukawa, S.; Fujita, T.; Shimabukuro, M.; y col. (2004). Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic síndrome. *Clin Invest*; 114: 1752-1761.

García, R. M. (2003). Producción de semillas forestales de especies forrajeras enfatizadas en sistemas silvopastoriles. INAFOR. 37p. [En línea]. <http://www.inafor.gob.ni/index.php/publicaciones>.

Goh, C.W. (1996). Opening Address. First International Conference on East – West Perspectives on Funtional Foods. Singapore. September 26 – 29.

Gutiérrez, J. (2006). ¿Qué sabe usted acerca de los radicales libres? *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, vol. 37, núm. 4, octubre-diciembre. pp. 69-73.

Greenwald, R. (1990). "Current approaches to the development of oxygen radical scavengers", in *Drugs of Today*. 26, pp. 299-307.

Hassimotto N, Da Mota R, Cordenunsi B, Lajolo F, (2008). Physicochemical characterization and bioactive compounds of blackberry fruits (*Rubus* sp.) grown in Brazil. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 28(3): 702-708.

Hidalgo, S., y Andino, M. (2011). Plan de exportación de maracuyá desde la provincia de Santo Domingo de los Tsachilas al mercado de Madrid – España, Periodo 2011 -2014. Tesis de pregrado. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. 24 – 28p.

Hollingsworth, P. (1995). Los alimentos funcionales: un concepto o un hecho. En: *Food Technol*. Abril. 32 – 34p.

IFIC. (2006). Alimentos funcionales. International Food Information Council: IFIC.org en español: Información sobre nutrición. Washington, D.C.

Ramírez J, García C, Vizcaíno J, Cárdenas J, Gutiérrez F, Mariel H, Villagrán S, (2012). ¿Qué son y para qué sirven los antioxidantes?. Revista de divulgación científica y tecnológica de la Universidad Veracruzana, XXV (2).

Rodríguez G, Guzmán M, Andrade E, y Hernández L (2010). Evaluación de las propiedades fisicoquímicas y funcionales de jugo obtenido mediante tratamiento enzimático en zarzamora comercial (*Rubus spp*) del estado de Michoacán. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guanajuato, Gto.

Kennedy, G.; Spence, V.; Mc Laren, M.; y col. (2005). Oxidative stress levels are raised in chronic fatigue syndrome and are associated with clinical symptoms. *Free Radical Biology & Medicine*; 39:584-589.

Lahoz, C.; Peña, R.; Mostaza, J. (2000). ¿Se deben de recomendar antioxidantes para la prevención cardiovascular? *Rev Clin Española*; (4):36-41.

López, J. (2013). Caracterización de coproductos de la industria del maracuyá (*Passiflora edulis var. Flavicarpa*) y su aplicación a productos cárnicos. Tesis de maestría. Universidad Miguel Hernández Escuela Politécnica Superior de Orihuela. Orihuela, Chile. 31 – 35p.

Marcos, A. (2008). Alimentos Funcionales y Nutraceuticos. In: II Congreso Ecuatoriano de Ingeniería de Alimentos y XI Jornadas de Ciencia y Tecnología en Alimentos, UTPL Loja.

Marcelo, J. (2009). Cultivo de maracuyá. Tesis de pregrado. Gerencia Regional Agraria La Libertad. Trujillo, Perú. 20p.

Margarita, M. F. (2011). Obtención de una bebida Isotónica nutritiva carbonatada a partir del extracto del penco de cabuya negra (*Agave americana L*). Ambato, Ecuador, 2011.

Miranda, M. (2002). Métodos de análisis de drogas y extractos. Tesis de pregrado Universidad de La Habana. La Habana, Cuba. 68 -69p.

N. Salas, E. Estrada, J. Pino, R. Alvis, D. Bazan, E Becerra, J. Sandívar, M. Carhuancho y A. Osorio. (2009). Proceso para obtener una bebida nutraceutica a partir de *Myrciaria*

dubia (Camu camu), orientado a reducir efecto genotóxico en niños de edad escolar. Rev. Per. Vol. 12 N° 2, Perú. 34 - 41p.

Palamada, J. & Kehrer, J. (1992). "Inhibition of protein carbonyl formation and lipid peroxidation by glutathione in rat liver microsomes", in Archives of Biochemistry and Biophysics 293, 103-109p.

Palou, F. Serra. (2000). Perspectivas europeas sobre los alimentos funcionales. Alimentación Nutrición y Salud: Vol. 7, N. ° 3. 76 - 90p.

Panadés, E. (2009). Alimentos para regímenes especiales/Funcionles: Una propuesta Metodológica. FAO. 149 – 151p.

Pineda, D.; Salucci, M.; Lázaro, R.; Maiani, G.; Ferro, A. (1999) Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. Rev Cubana Aliment Nutr 13p (2):104-111.

Pilosof, A. M. R. (2000). Gelificación. In: A. M. R. Pilosof, & G. B. Buenos Aires, Argentina: Eudeba. Bartholomai, Caracterización funcional y estructural de proteínas (pp. 75-95).

Quiñonez M, Miguel M, y Aleixandre A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. Nutrición Hospitalaria; 27(1): 76 – 89p ISSN 0212 – 1611.

Reyes, N. (2006). Moringa oleifera and Cratylia argentea: potential fodder species for ruminants in Nicaragua. Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science Department of Animal Nutrition and Management Uppsala. Doctoral thesis Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala.

Perez A, Sanchez T, Armengol N, y Reyes F. (2010). Características y potencialidades de Moringa oleifera, Lamark: Una alternativa para la alimentación animal. Pastos y Forrajes; vol.33, n.4, pp. 1-1. ISSN 0864-0394.

Pineda, D.; Salucci, M.; Lázaro, R.; Maiani, G.; Ferro, A. (1999) Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. Rev Cubana Aliment Nutr 13p (2):104-111.

- Price, M.L. (2000). The Moringa tree. Educational Concerns for Hunger Organization (ECHO). Technical Note. 1985 (revised 2000).
- Rojas, B.F. (2010). Diseño y evaluación de una bebida funcional con bifidobacterias a partir de pèrsimo. Instituto Politécnico Nacional, Mexico, D.F. 84p.
- Rojas J y Tomás Ch. (2010). Tamizaje fitoquímico y actividad antioxidante in vitro de *Passiflora edulis sims* (Maracuyá). Rev. Per. Vol: 13 N°1. 23 – 29p
- Santos-Buelga, C. y Scalbert, A. (2000). Proanthocyanidins and tannin-like compounds-nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. Journal of The Science of Food and Agriculture. 80:1094–1117.
- Senter, S- D.; Horvat, R. J, Payne, J. A. (2006). Comparative Analysis of Juice from Passion Fruit, Maypopos and Tetraploid Passion Fruit Hybrids. Northern Nut Growers Association Annual Repor/ 83: 120-126.
- Siebert, K. J., Troukhanova, N. V., & Lynn, P. Y. (1996). Nature of polyphenol-protein interactions. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44, 80-85.
- Silva, C., Silveira, M., Riveras, R-, y Zeni, M. (2004). Concentración de pectinasas por ultrafiltración con membranas de polisulfonas. Revista Iberoamericana de Polímeros. 8961. p.p. 4-6p.
- Thornalley, P.J.; Vasak, M. (1985). "Possible role for metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress. Kinetics and mechanism of its reaction with superoxide an hydroxyl radicals", en Biochimia et Biophysica Acta 827, 36 - 44p.
- Vale, S. L. (2006). Evaluación del uso combinado de membrana y preservatorio para mejorar la calidad de un cordial de parcha (*Passiflora edulis* variedad flavicarpa). Universidad de Puerto Rico, 2006. 66p.
- Valenzuela B., (2008). Introducción. In: Diplomado “Alimentos funcionales y Nutraceuticos”, Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos. Universidad de Chile, Santiago de Chile.
- Zamora S, Juan Diego. (2007). Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. Revista chilena de nutrición, 34(1), 17-26.

ANEXOS

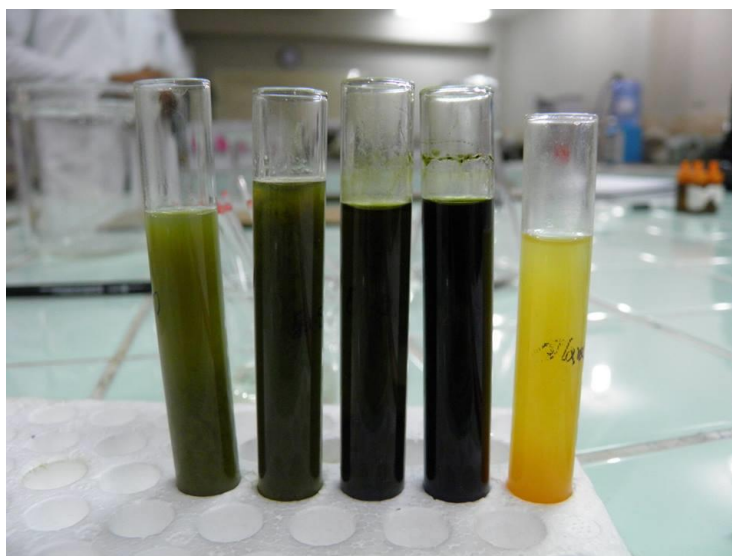
ANEXO N°1

Figura 18. Determinación de humedad de las diferentes mezclas de maracuyá (*Passiflora edulis*) y moringa (*Moringa oleífera*)



ANEXO N° 2

Figura 19. Muestras de maracuyá (*P. edulis*), moringa (*M. oleífera*) y concentraciones 1:2, 1:5 y 1:8



ANEXO N°3

Figura 20. Determinación de °Brix, % glucosa, % fructuosa e índice de refracción



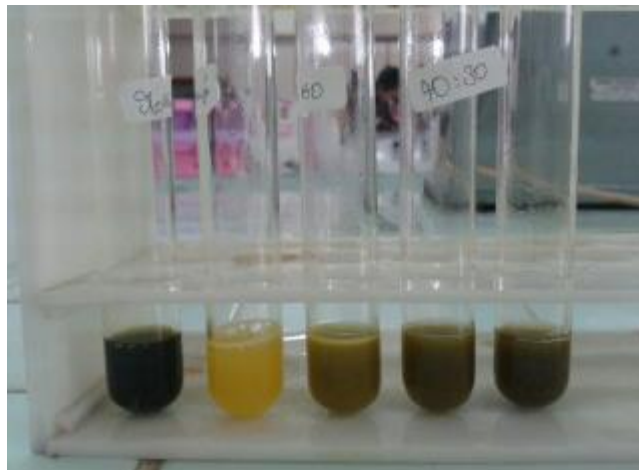
ANEXO N°4

Figura 21. Complejo de color azul por la reducción del reactivo de Folin – Denis por los residuos fenólicos de tirosina, presentes en las proteínas



ANEXO N°5

Figura 22. Determinación de compuestos bioactivos en las muestras y mezclas de maracuyá y moringa



ANEXO N°6

Figura 23. Determinación de acidez titulable



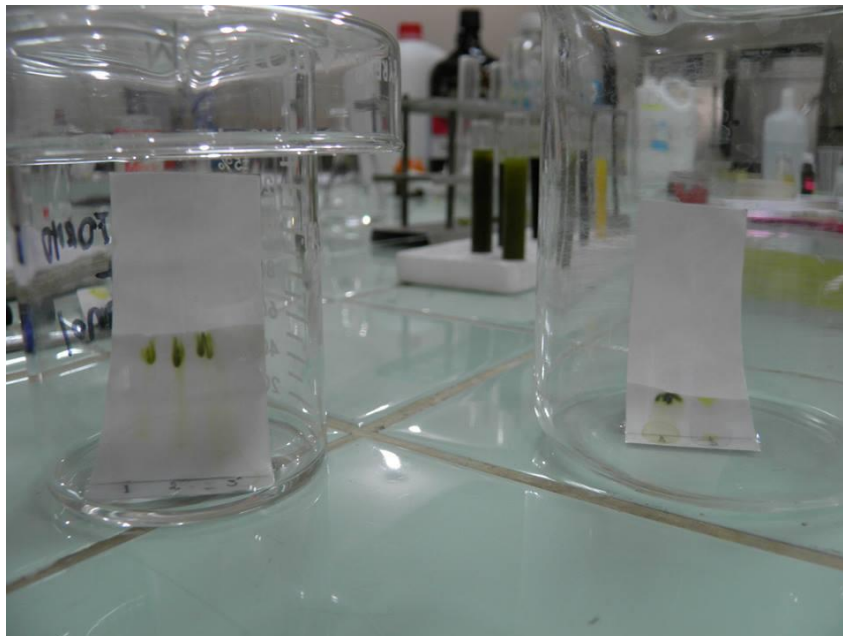
ANEXO N°7

Figura 24. Colorímetro de refalctancia Chroma meter CR – 410



ANEXO N° 8

Figura 25. Corrida de las muestras en la placa de cromatografía en capa fina.



ANEXO N°9

Figura 26. Determinación de actividad antioxidante por el método del DPPH

