



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA
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:

**“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y
COMPUESTOS FENÓLICOS EN LA PULPA DE LA MARACUYÁ
(*Passiflora edulis*)”**

AUTORA:

ANNABELL NARCISA PARDO JUMBO

TUTORA DE TRABAJO DE TITULACIÓN:

DRA. ANA PAOLA ECHAVARRÍA VÉLEZ, PhD.

MACHALA – ECUADOR

2015

CERTIFICACIÓN

Doctora Ana Paola Echavarría Vélez, PhD

INVESTIGADOR PROMETEO DEL PROGRAMA DEL SENESCYT

CERTIFICA:

Que el presente informe del trabajo de titulación intitulado: **“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS FENÓLICOS EN LA PULPA DE LA MARACUYÁ (*Passiflora edulis*)”**. Ha sido prolijamente revisado y corregido en base a criterios técnicos – metodológicos exigidos para este tipo de trabajos, de autoría de: **ANNABELL NARCISA PARDO JUMBO**; por lo que autorizo su presentación.

Particular que señalo para los fines legales pertinentes.

Machala, 30 abril del 2015

.....
Dra. Ana Paola Echavarría Vélez, PhD

TUTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Los criterios emitidos en el trabajo de investigación: **“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS FENÓLICOS EN LA PULPA DE LA MARACUYÁ (*Passiflora edulis*)”**, como también los contenidos, resultados, conclusiones, procedimientos de investigación y propuesta son de exclusiva responsabilidad de la autora de este trabajo de grado, quien para constancia firma a continuación:

Machala, 30 abril del 2015

.....

Annabell Narcisa Pardo Jumbo
AUTORA

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTORÍA

Yo, **Annabell Narcisa Pardo Jumbo**, con cédula de identidad **070647471 – 5**, egresada de la carrera 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 titulado: **“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS FENÓLICOS EN LA PULPA DE LA MARACUYÁ (*Passiflora edulis*)”**. 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 de 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.

.....
Annabell Narcisa Pardo Jumbo
C.I.: 070647471 – 5
AUTORA

DEDICATORIA

A Dios, por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida, y mostrarme día a día que con humildad, paciencia y sabiduría todo es posible.

A mis padres, por ser el cimiento fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, siendo ellos quienes sentaron en mi las bases de responsabilidad y deseos de superación.

A mis hermanas, por ser la bendición divina de amistad sincera y fraterna hermandad basada en respeto y amor, quienes con su confianza supieron ser el motor importante de mis logros académicos y personales.

AGRADECIMIENTO

Mi eterno agradecimiento se dirige a quien ha forjado mi camino y me ha dirigido por el camino correcto, a Dios, el que en todo momento sostiene mi vida con su potestad sobrenatural.

Siempre agradeceré a mis padres por su esfuerzo y dedicación para que mi preparación profesional llegue a culminarse, recibiendo de ellos en todo momento motivación y aquellas oraciones que supieren llegar al corazón de Dios.

Agradezco con sinceridad entrañable a mis hermanas quienes guiaron mi camino con palabras de respaldo incondicional en cada meta propuesta.

Mi agradecimiento al asesoramiento, colaboración y apoyo de mi tutora, Dra. Ana Paola Echavarría Vélez, quién a invertido tiempo, conomientos y material de investigación, para la culminación exitosa de mi trabajo de titulación.

A las Dras. Carmita Jaramillo, Haydelba D'Armas y Mayrin Lemus, quienes que con sus conocimientos y contribución formaron parte importante en el desarrollo de mi trabajo de titulación.

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	18
ABSTRACT	19
INTRODUCCIÓN	20

CAPÍTULO I

DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

1.1 Planteamiento del problema	21
1.2 Justificación	22
1.3 Objetivos	23
1.3.1 Objetivo general.....	23
1.3.2 Objetivos específicos.....	23

CAPITULO II
MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes	24
2.2 Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)	25
2.3 Clasificación taxonómica	26
2.4 Zonas de producción del maracuyá en el Ecuador	26
2.5 Composición nutricional del maracuyá	27
2.6 Subproductos del maracuyá	29
2.7 Enzimas	30
2.7.1 Aplicación de enzimas en la industria de jugos de fruta.....	30
2.7.2 Enzima Rapidase®.....	31
2.8 Alimentos funcionales	31
2.9 Antioxidantes	33
2.10 Clasificación de los antioxidantes	34
2.10.1 Según su función.....	34
2.10.1.1 Primarios.....	34
2.10.1.2 Secundarios.....	35
2.10.1.3 Terciarios.....	35
2.10.2 Según su sitio de acción.....	35
2.10.3 Según su origen.....	35

2.11 Antioxidantes en alimentos	36
2.12 Fuentes naturales de antioxidantes	37
2.13 Compuestos fenólicos	38
2.14 Capacidad antioxidante de las frutas	40
2.15 Mecanismo de acción del radical DPPH (2-difenil-1-picril hidrazilo)	41

CAPITULO III

METODOLOGÍA

3.1 Delimitación	43
3.2 Enfoque de la investigación	43
3.3 Diseño experimental	43
3.3.1 Factor y niveles de estudio para la determinación de la capacidad antioxidante.....	44
3.4 Tipo de muestra	44
3.5 Descripción de la Investigación	44
3.5.1 Localización de la investigación.....	44
3.5.2 Preparación de muestras.....	45
3.5.3 Materiales y equipos.....	46
3.5.4 Tipo de investigación.....	47
3.5.5 Protocolo general de la investigación.....	48
3.5.5.1 Diagrama de flujo general del proceso de investigación.....	48

3.6 Métodos	49
3.6.1 Composición proximal.....	49
Determinación de humedad.....	49
Determinación de cenizas.....	49
Determinación de proteínas por el método de Lowry.....	49
Determinación de glucosa y fructosa.....	50
3.6.2 Análisis fisicoquímicos.....	50
Determinación de pH.....	50
Determinación de acidez titulable.....	50
Determinación de densidad.....	50
Determinación de viscosidad.....	51
Determinación de sólidos solubles.....	51
Índice de refracción.....	51
Parámetros de color por el modelo CIEL*a*b*.....	51
Determinación del índice de madurez.....	52
3.6.3 Determinación de compuestos bioactivos.....	52
3.6.3.1 Análisis fitoquímicos.....	52
Determinación de flavonoides.....	52
Determinación de fenoles y taninos.....	52
Determinación de saponinas.....	53
Determinación de glucósidos cianogénicos.....	53
3.6.3.2 Cromatografía en capa fina.....	53
3.6.4 Determinación de la capacidad antioxidante.....	54
Método DPPH (2-difenil-1-picril hidrazilo).....	54

3.7 Hipótesis general	55
Hipótesis nula (H0).....	55
Hipótesis alternativa (H1).....	55
3.8 Descripción de variables	55
Variables dependientes.....	55
Variables independientes.....	55
3.9 Interpretación de datos y análisis estadístico	55

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Composición proximal	56
4.2 Análisis fisicoquímicos	59
4.2.1 Índice de madurez (IM) de frutos del maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)	63
4.3 Determinación de compuestos bioactivos	64
4.3.1 Tamizaje fitoquímico.....	64
4.3.2 Cromatografía en capa fina.....	66
4.4 Determinación de capacidad antioxidante	68
4.4.1 Método DPPH (DPPH (2-difenil-1-picril hidrazilo)).....	68

4.5 Análisis estadístico	70
4.5.1 Análisis de varianza.....	70
4.5.2 Prueba post hoc Tukey HSD.....	71
4.6 Verificación de la hipótesis	71
CONCLUSIONES	72
RECOMENDACIONES	74
BIBLIOGRAFÍA	75

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción taxonómica del maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>).....	26
Tabla 2. Carbohidratos y ácidos no volátiles presentes en el maracuyá variedad flavicarpa Degener y variedad púrpura Sims.....	29
Tabla 3. Clasificación de los antioxidantes según el sitio donde ejercen su acción...	35
Tabla 4. Clasificación de los antioxidantes, según su origen.....	36
Tabla 5. Factor y niveles para la evaluación de la capacidad antioxidante de la pulpa de maracuyá.....	44
Tabla 6. Concentraciones de los extractos acuosos y etanólico de la pulpa de maracuyá.....	46
Tabla 7. Porcentaje de humedad y cenizas en la pulpa y semillas de maracuyá (<i>P. edulis</i>).....	56
Tabla 8. Concentración de albúmina para determinar el contenido de proteínas.....	57
Tabla 9. Concentración de proteínas en la pulpa de maracuyá (<i>P. edulis</i>).....	58
Tabla 10. Porcentaje de fructosa y glucosa en la pulpa de maracuyá.....	58
Tabla 11. Determinación de pH, Acidez y sólidos solubles en la pulpa de maracuyá.....	59

Tabla 12. Determinación de índice de refracción, densidad y viscosidad en la pulpa de maracuyá.....	60
Tabla 13. Parámetros de color para el fruto y pulpa de maracuyá (<i>P. edulis</i>).....	62
Tabla 14. Índice de madurez (IM) de frutos de maracuyá (<i>P. edulis</i>).....	63
Tabla 15. Determinación cualitativa de compuestos bioactivos en la pulpa de maracuyá.....	64
Tabla 16. Valores Rf de los extractos etanólico y acuoso separados por cromatografía en capa fina.....	67
Tabla 17. Capacidad antioxidante de los extractos de la pulpa de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>).....	69
Tabla 18. Análisis de varianza (ANOVA) para los extractos de la pulpa de maracuyá.....	70
Tabla 19. Prueba post hoc Tukey HSD para los extractos de la pulpa de maracuyá.....	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>).....	25
Figura 2. Sistema de defensa antioxidante.....	33
Figura 3. Antioxidantes como secuestradores de radicales libres.....	37
Figura 4. Flavonoide.....	39
Figura 5. Estructuras y espectros del radical DDPH• (2-difenil-1-picril hidrazilo) (línea violeta) y de DPPH (2-difenil-1-picril hidrazilo) reducido (línea amarilla).....	41
Figura 6. Fruto recolectado del sector Estero Medina.....	44
Figura 7. Protocolo para preparación de muestras.....	45
Figura 8. Evaluación de la capacidad antioxidante por el radical DPPH (2-difenil-1-picril hidrazilo).....	54
Figura 9. Curva patrón con Albúmina para cuantificación de proteínas.....	57
Figura 10. Cambio de viscosidad a diferentes velocidades de rotación.....	61
Figura 11. Representación positiva de saponinas en extracto acuoso 1:2.....	66
Figura 12. Técnica de cromatografía en capa fina.....	67

Figura 13. Curva patrón con ácido ascórbico para determinar la capacidad antioxidante.....	68
Figura 14. Correlación de % de inhibición de los extractos de la pulpa del maracuyá.....	70
Figura 15. Homogenizado de la pulpa y extractos acuosos de maracuyá (<i>P. edulis</i>).....	85
Figura 16. Determinación de acidez en la pulpa de maracuyá.....	85
Figura 17. Determinación de densidad en la pulpa de maracuyá (<i>P. edulis</i>).....	86
Figura 18. Complejo de color azul por la reducción del reactivo Folin–Denis.....	86
Figura 19. Determinación de fenoles y taninos.....	87
Figura 20. Corrida de extractos acuosos y etanólico en la placa de cromatografía en capa fina.....	87
Figura 21. Medición de absorbancia de las concentraciones de ácido ascórbico.....	88
Figura 22. Reducción del DPPH.....	88

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1. Proceso de homogenizado de la pulpa y extractos acuosos de maracuyá (<i>P. edulis</i>) en equipo Vortex Mixer VM – 300.....	85
ANEXO N° 2. Análisis físico – químicos en la pulpa de maracuyá (<i>P. edulis</i>).....	85
ANEXO N° 3. Determinación de proteínas en el extracto etanólico por el método de Lowry.....	86
ANEXO N° 4. Determinación cualitativa de compuestos bioactivos en extractos acuosos y etanólico.....	87
ANEXO N° 5. Curva patrón de ácido ascórbico para determinación de capacidad antioxidante.....	88

RESUMEN

El presente trabajo evaluó la capacidad antioxidante *In vitro* de los extractos acuoso y etanólico a una concentración de 1:2, obtenidos de la pulpa del maracuyá (*Passiflora edulis*), a través del método DPPH (2-difenil-1-picril hidrazilo). Se mostraron valores muy significativos de la capacidad antioxidante de los compuestos presentes en ambos extractos a un nivel de confianza del 95%.

En el ensayo de captación del radical DPPH el valor de IC₅₀ (Concentración inhibidora máxima media) más bajo fue para el extracto etanólico 1:2 con 130,397 µg/mL y el más alto para el extracto acuoso 1:2 con 141,180 µg/mL. En cuanto al porcentaje de inhibición del radical DPPH fue de 36,3 y 29,6, respectivamente, a una longitud de onda de 517 nm.

Se identificó los compuestos bioactivos mediante análisis fitoquímicos y cromatografía en capa fina, determinando la presencia de flavonoides, fenoles y/o taninos, obteniéndose resultados positivos en todos los casos, en el extracto etanólico.

En recientes estudios se ha demostrado que la capacidad antioxidante está relacionada a la polaridad del solvente y a la concentración del extracto. De tal manera, que al aumentar estos valores aumentó el poder reductor del radical DPPH. Esto indica que el extracto etanólico presenta mayor capacidad antioxidante, atribuible a la presencia de compuestos bioactivos. Con los resultados obtenidos se comprobó la hipótesis planteada de que existe una correlación positiva entre los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante, en este caso la capacidad antioxidante depende de los metabolitos secundarios, especialmente aquellos de naturaleza fenólica como flavonoides.

ABSTRACT

In the present study the *In vitro* antioxidant capacity of the aqueous and ethanolic extracts to a concentration of 1:2 was evaluated, it was obtained from the pulp passion fruit (*Passiflora edulis*), through the DPPH (2-difenil-1picril hidrazilo) method. It showed significant values corresponding to the antioxidant capacity of the present compounds in both extracts at a confidence level of 95%.

In the experimental test of DPPH radical scavenging the value of IC₅₀ (average maximum inhibitory concentration) ethanolic extract 1:2 was the lowest with 130,397 µg/ml and the highest for aqueous extract 1:2 with 141,180 µg/ml. Regarding to the radical DPPH inhibition percentage, the valves were 36,3 y 29,6 % respectively at a 517 nm wavelength.

These bioactive compounds were identified by phytochemicals analysis and thin layer chromatography, determining the presence of flavonoids, phenols and tannins, positive results were obtained in all ethanolic extracts.

Recent studies have shown that the antioxidant capacity is related to the solvent polarity and the extract concentration. So that by increasing these values also increases the radical reducing power. This shows that the ethanolic extract had the highest antioxidant capacity, attributable to the presence of bioactive compounds. With the results obtained it was proved the hypothesis that there is a positive correlation between phenolic compounds and antioxidant capacity, in this case the antioxidant capacity depends on secondary metabolites especially those of phenolic nature as flavonoids.

INTRODUCCIÓN

El maracuyá (*Passiflora edulis*) es una fruta originaria de Centroamérica por su clima tropical pero también se produce en Kenia, Costa de Marfil, sur de África y Australia. Lo que fundamentalmente caracteriza a esta fruta es la presencia de pigmentos (xantofilas) que además de otorgarle su color y sabor característico, poseen acción antioxidante y por ende neutralizan los radicales libres causantes del estrés oxidativo (Calvo, 2010).

Según las tendencias mundiales de la alimentación, durante los últimos años ha existido un interés progresivo, por parte de los consumidores, investigadores y la industria alimentaria, puesto que las frutas y verduras además de contener nutrientes, podrían proporcionar un efecto fisiológico beneficioso para la salud, el funcionamiento del organismo y el bienestar, dado que existe un efecto sinérgico entre los compuestos bioactivos presentes, aportando mayor capacidad antioxidante a los alimentos que los contiene (López, 2013).

Esta investigación tiene por objetivo evaluar la capacidad antioxidante, por el método de espectroscopia ultravioleta-visible, que se representa por la inhibición del radical libre DPPH, y los compuestos bioactivos contenidos en la pulpa de maracuyá para la posible elaboración de bebidas funcionales. Con esta investigación se propone una alternativa innovadora con el propósito de aprovechar industrialmente las características de la pulpa de maracuyá, de modo que se evidenciará el potencial de los antioxidantes contenidos en la fruta, para sus posibles aplicaciones industriales.

En general se puede considerar la pulpa de maracuyá como un alimento con un alto contenido de compuestos bioactivos que poseen propiedades químicas y nutricionales con potente capacidad antioxidante que son atribuidos a prevenir ciertas enfermedades de patología inflamatoria.

CAPÍTULO I

1. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema

Actualmente las tendencias de salud y bienestar indican la creciente demanda de bebidas funcionales y más ingredientes naturales que están promoviendo el dinamismo y nuevos lanzamientos de productos que además del valor nutritivo aporten beneficios a las funciones fisiológicas del organismo humano (Oda, 2013). Estas variaciones en los patrones de alimentación generan una nueva área de desarrollo en las ciencias de los alimentos y de la nutrición que corresponde a los alimentos funcionales (González, 2002).

Diversos estudios han demostrado que la acción de ciertos agentes externos causan procesos oxidativos en el organismo, como lo son: el aire contaminado, alcohol, cigarro, luz solar, ejercicio extenuante, dieta hipercalórica, dieta baja en antioxidantes y el consumo de drogas, lo cual sumado dichos factores y cuando se abusa de ellos, los mecanismo de defensa no son suficientes para erradicar los efectos provocados por los radicales libres (Baizabal, 2010).

La presencia de antioxidantes en un alimento contribuye a su conservación retardando la degradación oxidativa que afecta principalmente a sus lípidos y proteínas. Tal función la cumplen tanto los antioxidantes que naturalmente forman parte de los alimentos, como aquellos que son adicionados durante su procesamiento. En este último caso, los antioxidantes son mayormente sintéticos y son referidos como preservantes de alimentos procesados, conservando su calidad nutricional y organoléptica, extendiendo su vida útil (Inta, 2010).

En la provincia de El Oro como en otros sectores del país se cultiva el maracuyá (*Passiflora edulis*), debido a las sustancias antioxidantes que contiene esta fruta, proporciona una gran cantidad de beneficios cuando es consumida. El maracuyá contiene polifenoles, estos tienen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (Méxicocert, 2007).

Por lo tanto, esta fruta puede aportar componentes nutricionales como materia prima para la elaboración de bebidas funcionales, considerados en la actualidad como los alimentos del futuro.

1.2. Justificación

Actualmente, se ha demostrado que el consumo de frutas y verduras está asociado al bajo riesgo de incidencias de cáncer y enfermedad coronaria, disminuyendo los efectos de estos padecimientos, según diversas investigaciones epidemiológicas. Los fenoles, especialmente los flavonoides, manifiestan una gran capacidad para captar radicales libres causantes del estrés oxidativo (Azuero y Troncoso, 2005).

En algunas zonas alrededor de la costa ecuatoriana, como lo es el sector Estero Medina, cantón Santa Rosa, provincia de El Oro, se cultiva el maracuyá (*Passiflora edulis*), este fruto es muy codiciado ancestralmente en nuestro país por sus importantes propiedades nutricionales y medicinales. Por lo cual, surge la necesidad inminente de investigar este cultivo y revalidar sus propiedades nutricionales, fisicoquímicas y antioxidantes que otorguen beneficios para la protección de la salud.

Según Franco y Moure (2010), se incrementa el interés del personal especializado por hacer del campo de trabajo de los antioxidantes naturales una herramienta básica para una buena salud y la elaboración de mejores productos en las industrias farmacológicas y alimentarias.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Evaluar la capacidad antioxidante y los compuestos bioactivos contenidos en la pulpa de maracuyá para la posible elaboración de bebidas funcionales.

1.3.2. Objetivos específicos

- Caracterizar los parámetros físico – químicos de la pulpa de maracuyá.
- Obtener extractos con dos tipos de solventes (etanólico y acuoso) determinando cuál es el mejor solvente para extraer compuestos bioactivos (flavonoides, fenoles y/o taninos, saponinas y glucósidos cianogénicos) del maracuyá.
- Determinar cualitativamente los compuestos bioactivos contenidos en los extractos (etanólico y acuoso) de la pulpa de maracuyá mediante tamizaje fitoquímico y cromatografía en capa fina.
- Evaluar la capacidad antioxidante *In vitro* en los extractos (etanólico y acuoso) de la pulpa de maracuyá (*Passiflora edulis*) mediante el método DPPH (2-difenil-1-picril hidrazilo).

CAPITULO II

2. Marco teórico

2.1. Antecedentes

Actualmente el concepto clásico de "nutrición adecuada", es decir, aquella que aporta a través de los alimentos los nutrientes (hidratos de carbono, proteínas, grasas, vitaminas y minerales) suficientes para satisfacer las necesidades orgánicas particulares, tiende a ser sustituido por el de "nutrición óptima", que incluye, además de la definición anterior, la potencialidad de los alimentos para promocionar la salud, mejorar el bienestar y reducir el riesgo de desarrollar enfermedades (López, 2013). Diversos estudios en nutrición humana, demuestran una estrecha correlación entre el consumo de frutas y vegetales y la menor incidencia de enfermedades crónico degenerativas, debido a su bajo contenido en colesterol y a la presencia de vitaminas, fibras, antioxidantes naturales y minerales, que otorgan beneficios para la protección de la salud (Castañeda, 2008).

Además diversas investigaciones indican que los compuestos fenólicos donde la característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol (Paladino, 2010), están asociados al color, las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza), las características nutritivas y las propiedades antioxidantes de los alimentos de origen vegetal.

Por sus propiedades medicinales, los frutos del género *Passiflora* son un potencial antioxidante y antimicrobiano siendo una alternativa para el control de enfermedades digestivas, por lo cual tienen un alto potencial de mercado (Cabrera, 2014).

Estudios fitoquímicos realizados en extractos acuosos, etanólicos y cetónicos de las hojas y fruto del maracuyá han permitido distinguir la presencia de compuestos activos entre los que se encuentran los flavonoides, glucósidos cianogénicos, alcaloides y carotenoides que favorecen a disminuir los efectos de los trastornos de ansiedad, insomnio y nerviosismo, además de ejercer efecto antihipertensivo, antiinflamatorio, hipocolesterolémico, antitumoral y antifúngico (Romero, 2013).

Estos antecedentes justifican la utilización de la pulpa del maracuyá para la elaboración e innovación de bebidas funcionales, que tenga un efecto sinérgico procedente de las propiedades antioxidantes y captadoras de radicales libre.

2.2. Maracuyá (*Passiflora edulis*)



Figura 1. Maracuyá (*Passiflora edulis*)

Fuente: La autora

El maracuyá (*Passiflora edulis*), es un fruto pastuso del género *Passiflora* además llamado fruta de la pasión, es originario del Brasil, que es el mayor productor mundial. Es un cultivo que se introdujo comercialmente al Ecuador en los años 70 (Elizalde, 2011).

Con el nombre común de maracuyá se conoce a diversas plantas del género *Passiflora*, este fruto es una baya, de forma globosa u ovoide, con un diámetro de 0,04 a 0,08 m de largo, la base y el ápice son redondeados, la corteza es de color amarillo, de consistencia dura, lisa y cerosa, de unos 0,003 m de espesor; el pericarpio es grueso, contiene de 200 a 300 semillas, cada una rodeada de un arilo (membrana mucilaginosa) que contiene un jugo aromático en el cual se encuentran las vitaminas y otros nutrientes (López y Vélez, 2013).

El maracuyá se desarrolla de mejor manera en zonas tropicales o subtropicales (Borja, 2008), empezando a producir entre los 6 a 10 meses, dependiendo de las condiciones de clima, especialmente de la temperatura (Hernández, 1997), estas fluctúan entre 23 y 28 °C, con una precipitación que oscila entre 600 a 1200 mm.

En los últimos años se han instalado varias fábricas de extracción de pulpa de maracuyá, sin embargo por ser un cultivo relativamente fácil, su precio es muy vulnerable y tiene variaciones extremas que eventualmente han creado serias dificultades a los productores (Borja, 2008).

La especie *Passiflora* presenta un sabor particular intenso y una alta acidez, muy apreciado en Norteamérica y Europa que lo demandan con gran interés como fruta "exótica" colocándolo en un lugar promisorio y rentable en términos de mercadeo (Hernández, 1997).

2.3. Clasificación taxonómica

El maracuyá es conocido con el nombre científico de *Passiflora edulis*, especifica que su fruto es comestible.

Tabla 1. Descripción taxonómica del maracuyá (*Passiflora edulis*)

MARACUYÁ	
	
Nombre científico:	<i>Passiflora edulis</i>
Nombres comunes:	Maracuyá, Parchita, Parcha
División:	Espermatofita
Clase:	Dicotiledónea
Familia:	Passifloraceae
Género:	Passiflora
Especie:	Edulis
Fuente: (Marcelo, 2009)	

2.4. Zonas de producción del maracuyá en el Ecuador

El cultivo de maracuyá (*Passiflora edulis*) se encuentra ampliamente distribuido en el territorio ecuatoriano (Borja, 2008), pues nuestro país dispone de condiciones climáticas apropiadas para este cultivo, el mismo que se puede desarrollar en diferentes zonas, tanto en la costa, como en el oriente (Pozo, 2006). El maracuyá se da durante todo el año, si bien se destacan la cosecha entre abril – septiembre y diciembre – enero, en las cuáles los niveles de producción son superiores al promedio (Hidalgo y Andino, 2011).

Según datos del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP), el cultivo del maracuyá tiene alta relevancia social, debido al alto rango de adaptación de la planta a las diferentes zonas del Litoral. Se estima que unas 6.500 personas se emplean directamente en esta producción (Andes, 2015).

Las principales zonas de producción de maracuyá están divididas en los siguientes cantones: Quinindé, Santo Domingo, El Carmen, Chone, San Isidro, San Vicente, Bahía, Quevedo, El Empalme, Echeandía, Caluma, Ventanas, Catarama, Vinces, Babahoyo, Milagro, La Península de Santa Elena, La Troncal, El Triunfo, Naranjal, El Guabo, Pasaje, Piñas y Portovelo (López y Santana, 2006).

Según el viceministro de Comercio Exterior Francisco Ballén, durante el año 2015 nuestro país cuenta con 14.000 hectáreas de cultivo de maracuyá y se aspira a duplicar esa área en los próximos diez años.

Las autoridades de los ministerios de Comercio Exterior, MAGAP (Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca), y representantes de la Corporación para la promoción de Exportaciones e Inversiones (CORPEI), como ente privado, legalizaron el acuerdo marco para la implementación del plan que tiene como meta hasta el 2025 consolidar a Ecuador como el primer exportador de productos de esa fruta tropical con valor agregado (Andes, 2015).

2.5. Composición nutricional del maracuyá

El género *Passiflora* constituye una enorme riqueza, tanto a nivel económico, como nutricional y de recursos genéticos (Carvajal y Álvarez, 2011). El maracuyá (*Passiflora edulis*) compuesta de 55 % de cáscara, de 30 % de jugo y de 15% de semilla aproximadamente. Este fruto posee un alto contenido de carotenoides, esenciales para el metabolismo, crecimiento y para el buen funcionamiento del organismo. Además es una fuente de proteínas, carbohidratos, minerales y grasas. Tiene un valor energético de 78 calorías compuesto por carbono, fósforo, hierro, Vitamina B2, Vitamina C (López y Vélez, 2013).

El maracuyá contiene altos niveles de fibra, vitamina A y E por lo que contribuye a la regulación de la digestión, a la reducción del colesterol y además tiene propiedades antioxidantes, para evitar el envejecimiento prematuro de la piel (Proecuador, 2014). Su vitamina C, más abundante en la variedad amarilla, se

aproxima a la del limón y la naranja. Esta vitamina interviene en la formación del colágeno, huesos, dientes y glóbulos rojos, favorece la absorción del hierro, refuerza el sistema inmunitario y ejerce una acción antioxidante (Abril, 2010).

Esta fruta es frecuentemente utilizada en dietas de adelgazamiento debido a su bajo contenido de calorías y por su alto contenido de fibra (Proecuador, 2014), junto con sus propiedades antioxidantes. Ayudando a depurar el organismo, mientras que los antioxidantes evitan el deterioro de los radicales libres que se producen durante la quema de calorías en el proceso de adelgazamiento (Botanical, 2010).

Al igual que el resto de las partes de la planta, presenta propiedades tranquilizantes y desintoxicantes, no solamente por su contenido en vitamina C y por la niacina, sino también por su alto contenido en vitamina A que se convierte en Betacaroteno, y compuestos activos conocidos como alcaloides. Estos elementos desintoxicantes parecen otorgarle al maracuyá o fruta de la pasión propiedades anticancerígenas (Lalibertad, 2012). Los estudios de Pruthi (1963), a los pigmentos del jugo de maracuyá reportaron la presencia de trazas de flavonoides. Los mayores pigmentos fueron identificados como carotenoides: alfa, beta y gama caroteno.

En investigaciones preliminares se declara que el contenido de sacarosa es menor en la variedad púrpura que en la amarilla, mientras tanto el maracuyá púrpura tiene una mayor dulzura que la amarilla (Flores, 2004). El alto contenido de ácido cítrico es el distintivo más característico e importante en el procesamiento de productos que contienen este fruto (Hernandez, 1997). Según Pruthi (1963), el ácido predominante en el maracuyá variedad amarillo es el ácido cítrico en un rango de 93,3 a 96,2 % del total de ácidos presentes en el jugo de maracuyá y ácido málico en un rango de 3,8 – 6,7 % del total. Estas investigaciones también manifiestan que el maracuyá facilita la absorción de zinc y quizás de otros minerales. Estudios realizados por Flores (2004), reportaron que en el jugo de maracuyá se encontraron de manera libre ácido acetilsalicílico y benzoico favoreciendo su alta acidez.

Tabla 2. Carbohidratos y ácidos no volátiles presentes en el maracuyá variedad flavicarpa Degener y variedad púrpura Sims

Fruto	Fructosa	Glucosa	Sacarosa	Á.Málico	Á.Cítrico
M.f.	14,5	19,8	9,1	0,9	6,6
M.p.	16,2	20,1	8,1	1,3	3,4

Á; ácido. M.f; maracuyá flavicarpa, M.p; maracuyá púrpura. Valores reportados en mg/g jugo.

Fuente: (Flores, 2004)

En la Tabla 2 podemos observar que en el maracuyá variedad flavicarpa Degener prevalece el ácido cítrico, seguido del ácido málico. Otros ácidos presentes en el maracuyá variedad flavicarpa Degener, pero en cantidades más bajas fueron el láctico, malónico y succínico (Hernández, 1997).

2.6. Subproductos del maracuyá

En la actualidad, más de 40 países en el mundo cultivan el maracuyá en forma comercial (Hidalgo y Andino, 2011). El maracuyá se caracteriza por las cualidades gustativas de sus frutos y por las cualidades farmacológicas, dinámicas y alimenticias de su jugo, cáscara y semillas (Hernández, 1997). Esta fruta se ingiere generalmente en forma de jugos tropicales o frutas frescas, por ser de un sabor agradable (López y Santana, 2006).

El maracuyá es un fruto rico en vitaminas y calorías, este fruto se consume comúnmente en su estado industrializado, además existen otras formas de consumir sus derivados tales como en: jugos multivitamínicos, mermeladas, licores, pudines, helados y enlatados. Además es importante ingrediente en la repostería, pastelería, panadería, elaboración de cocteles, confitería y en la preparación de mezclas con jugos de otras frutas tales como guayaba, cítricos y piña (González y Álvarez, 2009).

La industrialización del maracuyá genera varios miles de toneladas de subproductos formados por semillas, pulpa y corteza. Existen diversos estudios donde se analiza la composición de estos subproductos para su utilización como potencial ingrediente funcional (López, 2013).

2.7. 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 (Silva y col, 2004). Las enzimas tienen una temperatura y un 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).

2.7.1. Aplicación de enzimas en la industria de jugos de fruta

En el procesamiento de jugos la pulpa y semillas de las frutas hacen que los jugos sean turbios y demasiado viscosos, produciéndose también ocasionalmente problemas en la extracción y en su concentración. Esto es debido a la presencia de pectinas, que pueden destruirse por la acción de enzimas presentes en el propio jugo o bien por enzimas añadidas obtenidas de fuentes externas (Echavarría y col, 2012a). Las pectinas tienen la capacidad de gelificar, propiedad que está determinada por factores intrínsecos, como su masa molecular y su grado de esterificación (que a su vez dependen de la materia prima, de las condiciones de su fabricación, etc.) y por factores extrínsecos, tales como: el pH, las sales disueltas y la presencia de azúcares (Pagán, 1998). La viscosidad de sus dispersiones, al igual que la de otros polisacáridos, se incrementa a medida que aumenta la masa molecular; en el caso de las pectinas, la viscosidad es mayor cuanto más se incrementa el grado de esterificación (Ibarz y Barbosa, 2005). Por lo cual, la solución preclarificada tiende a formar una capa de gel mucho más densa y por tanto la velocidad del flujo y la permeabilidad tienden a reducirse.

Las pectinasas microbianas son de gran interés comercial, y tienen múltiples aplicaciones en la industria de jugos, fundamentalmente, en el procesamiento de frutas y vegetales. Actualmente, las enzimas pécticas para uso comercial se producen a partir del hongo *Aspergillus niger* (Echavarría y col, 2011). Estas preparaciones comerciales están compuestas por una mezcla compleja de diferentes enzimas con actividad pectinolítica, y otras enzimas no pécticas con efectos indeseables.

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.

2.7.2. Enzima Rapidase®

Se utilizó una mezcla comercial de enzima: Rapidase® ProL (Gist-Brocades, Seclin, France), que contiene polygalacturonasa (pectinasa) y α -amilasa producida a partir del hongo de *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 a 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, 2012b).

2.8. Alimentos funcionales

Según el Servicio Ecuatoriano de Normalización (INEN) en la norma 2587, define a un alimento funcional como un alimento natural o procesado que siendo parte de una dieta variada y consumido en cantidades adecuadas y de forma regular, además de nutrir tiene componentes bioactivos que ayudan a las funciones fisiológicas normales y/o que contribuyen a reducir o prevenir el riesgo de enfermedades.

El concepto de alimento funcional, que surgió hace poco tiempo en Japón, ha sido posteriormente ampliado en los Estados Unidos y en Europa. Enuncia implícitamente que los alimentos y los componentes alimentarios pueden ejercer una influencia beneficiosa sobre las funciones fisiológicas al optimizar el estado de bienestar y salud, y reducir el riesgo de enfermedad (Ashwell, 2002).

Los componentes de los alimentos funcionales son eminentemente de origen vegetal o fitoquímico, aunque como excepción también están incluidos los suplementos prebióticos y probióticos. Los alimentos funcionales, los productos alimentarios y los suplementos dietarios que proveen un posible efecto fisiológico en el control o la prevención de enfermedades representan una oportunidad para el desarrollo de nuevos productos (Lutz y León, 2009). Actualmente se origina un interés progresivo en el consumo de alimentos ricos en nutrientes y fitoquímicos para el bienestar, la nutrición y la salud en general del consumidor (Ashwell, 2002).

Entre los alimentos funcionales se encuentran las bebidas funcionales, a base de jugos de frutas ya que aportan beneficios a la salud por encima de los valores nutritivos simples atribuidos al producto convencional, como pueden ser los jugos de frutas (Flores, 2004).

Las denominadas bebidas funcionales son aquellas que ofrecen beneficios para mantener y mejorar la salud; pueden ser funcionales naturalmente como el té (contiene antioxidantes en forma natural) o pueden adicionarse nutraceuticos como el calcio de leche, omegas, proteína aislada de soya, fibras, prebióticos, probióticos, L. carnitina, polifenoles, vitaminas, minerales y otras sustancias que le confieren beneficios específicos que pueden ser declarados en el producto (Pérez y Sandoval, 2012).

Las bebidas en el mercado global además de ser una necesidad para la buena salud y la vida, son la respuesta al deseo de los consumidores, quienes buscan opciones nutritivas, refrescantes, naturales, estimulantes y saludables; ellos también exigen condiciones especiales que categoriza las bebidas como Light, Fortificadas, Orgánicas, y Funcionales (Naranjo, 2014).

2.9. Antioxidantes

Los antioxidantes son componentes protectores que consisten en un arreglo enzimático y nutrientes esenciales (como vitaminas y pigmentos) cuya función principal es prevenir la formación de radicales libres e interceptar los que ya han generado oxidación de otras moléculas (González, 2010).

Los radicales libres son moléculas altamente inestables provenientes de la oxidación de otras moléculas utilizadas en los diversos procesos fisiológicos del cuerpo (Cortes, 2012), estas moléculas inestables interactúan con componentes celulares importantes como el ADN o las membranas (González, 2010) originando una desestabilización de su estructura y de esta forma dañando su funcionamiento (Cortes, 2012).

El daño oxidativo se relaciona con el origen y desarrollo de enfermedades crónicas, como la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), enfermedades cardiovasculares, daño oxidativo al ADN, cáncer y alteración de la visión (González, 2010), estos cambios fisiológicos y bioquímicos originan el deterioro y muerte celular.

El antioxidante al reaccionar con el radical libre le cede un electrón oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre débil, con escasos o nulos efectos tóxicos (Criado y Moya, 2011).

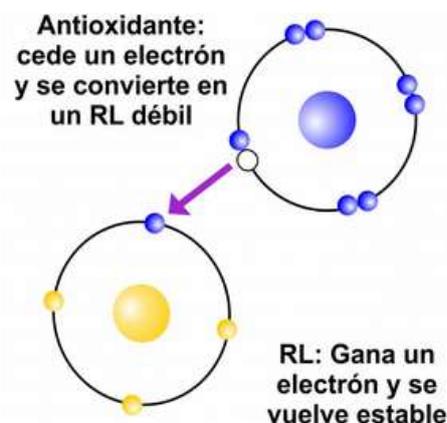


Figura 2. Sistema de defensa antioxidante

Fuente: (Cortes, 2012)

Los antioxidantes tienen diferentes mecanismos de acción; unos impiden la formación de los radicales libres (sistema de prevención) y otros inhiben la acción de los radicales libres (sistema barredor) y otros favorecen la reparación y la reconstitución de las estructuras biológicas dañadas (sistema de reparación) (Criado y Moya, 2011).

Por lo anterior se puede caracterizar como antioxidantes en el ámbito de los alimentos como aquellas sustancias que, en bajas cantidades, actúan previniendo o retardando considerablemente el daño oxidativo (Loor y Miño, 2013).

2.10. Clasificación de los antioxidantes

Los antioxidantes se clasifican en tres amplios grupos, en dependencia de su mecanismo de acción o función, también se los clasifica según el sitio donde ejercen su acción y según su origen.

2.10.1. Según su función

Generalmente la acción de un antioxidante puede depender de la función apropiada de otros miembros del sistema antioxidante. La cantidad de protección suministrada por un determinado antioxidante depende de su concentración, de su reactividad hacia la especie reactiva del oxígeno y del estado de los antioxidantes con los cuales interactúa (Toapanta, 2012).

2.10.1.1. Primarios

Este grupo de antioxidantes previenen la formación de nuevos radicales libres, transformándolos en moléculas menos nocivos antes de que puedan reaccionar o evitando la formación de radicales libres a partir de otras moléculas. (Barahona, 2013).

Por ejemplo la enzima Superóxidodismutasa (SOD) que cumple la función de convertir el O₂ en peróxido de hidrógeno, la enzima Glutatión peroxidasa (GPX) que convierte el peróxido de hidrógeno y los peróxidos lipídicos en moléculas inofensivas antes de que formen radicales libres, las catalasas, el glutatión reductasa, el glutatión S transferasa y proteínas de unión a metales (Ferritina, Ceruloplasmina) que limitan la disponibilidad de Fe necesaria para formar el radical OH (Ferrer y col, 1992).

2.10.1.2. Secundarios

Capturan los radicales libres, convirtiéndolos en formas menos reactivas (Criado y Moya, 2011). Por ejemplo: Vitamina E, vitamina C, ácido úrico, albúmina (Barahona, 2013).

2.10.1.3. Terciarios

Reparan las biomoléculas dañadas por los radicales libres. Por ejemplo: enzimas reparadoras de ADN y metionina sulfóxidoreductasa (Ferrer y col, 1992).

2.10.2. Según su sitio de acción

Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en la membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular. Como se detalla en la Tabla 3 (Barahona, 2013).

Tabla 3. Clasificación de los antioxidantes según el sitio donde ejercen su acción

Intracelular	Membrana	Extracelular
Catalasa	Ubiquinol-10	Ceruloplasmina
Peroxidasa	Vitamina E	Transferinas
DT-deafarasa	Betacarotenos	Lactoferinas
Sistemas Proteolíticos		Albúminas
Proteínas que ligan metales		Haptoglobinas
Vitamina C		Ácido úrico

Fuente: (Barahona, 2013)

2.10.3. Según su origen

Los antioxidantes también se pueden clasificar en ENDÓGENOS, producidos por la propia célula, y EXÓGENOS, que ingresan en el organismo a través de la dieta o de suplementos con características antioxidantes. Como se observa en la siguiente Tabla 4 (Barahona, 2013).

Tabla 4. Clasificación de los antioxidantes, según su origen

Exógenos	Endógenos	Cofactores
Vitamina E	Glutación	Cobre
Vitamina C	Coenzima Q	Zinc
Betacaroteno	Ácido fólico	Manganeso
Flavonoides	Enzimas: Catalasa Superóxido dismutasa Glutación Peroxidasa	Hierro
Licopeno		Selenio

Fuente: (Criado y Moya, 2011)

Los vegetales producen una gran diversidad de compuestos antioxidantes que incluyen Vitaminas, tal como la Vitamina C, es el antioxidante más abundante en los tejidos vegetales (Barahona, 2013), esta vitamina es hidrosoluble que actúa potenciando el efecto de otros antioxidantes como sucede con la vitamina E y el selenio. No se sintetiza en el organismo, por lo que se debe incluir en la dieta diaria. Sus funciones más significativas son neutralizar el oxígeno singlete (O₂), capturar radicales hidroxilos y aniones superóxido y regenerar la forma oxidada de vitamina E cuando esta ha reaccionado con un radical libre. Actúa de forma sinérgica con la vitamina E, y se ha comprobado que se absorbe mejor si se encuentra en una formulación que contenga vitamina E (Criado y Moya, 2011).

2.11. Antioxidantes en alimentos

La presencia de antioxidantes naturales en los alimentos es de vital importancia, no sólo porque estos compuestos contribuyen a definir las características organolépticas y a preservar la calidad nutricional de los productos que los contienen, sino además, porque al ser ingeridos, ayudan a preservar en forma considerable, la salud de los individuos que los consumen (Inta, 2010).

En el organismo se produce un equilibrio entre oxidantes/antioxidantes, cuando este equilibrio se rompe a favor de los oxidantes se produce un estrés oxidativo el cual está implicado en muchos procesos fisiopatológicos (Toapanta, 2012).

Por tanto, la recomendación de aumentar la ingesta de alimentos que contengan antioxidantes naturales es, en la actualidad, considerada una de las formas más efectivas de reducir el riesgo de desarrollo de aquellas enfermedades crónicas no transmisibles que más limitan la calidad y expectativas de vida de la población mundial (Inta, 2010).

Investigaciones realizadas indican que las vitaminas y los compuestos bioactivos antioxidantes (fotoquímicos) de los alimentos vegetales pueden tener un papel importante en la etiología de enfermedades crónicas (Criado y Moya, 2011).

2.12. Fuentes naturales de antioxidantes

Las frutas y vegetales son fuentes de antioxidantes que se pueden utilizar para la preservación del valor nutritivo previniendo el deterioro oxidativo de lípidos y para propósitos medicinales. La mayor parte de la capacidad antioxidante de los vegetales puede ser debida a los polifenoles que poseen características biológicas extensas y, particularmente, a su propiedad natural de capturar radicales libres (Martínez, 2007).

Numerosos estudios epidemiológicos, han mostrado que los compuestos fenólicos de las plantas, incluyendo los flavonoides, son antioxidantes potentes frente a enfermedades cardiovasculares y cancerígenas (Middleton y col, 1997).

La capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos es la propiedad de mayor interés, ya que ha sido punto de una gran cantidad de estudios; este efecto se debe a que contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos, los cuales reaccionan con los radicales libres, como se observa en la Figura 3.

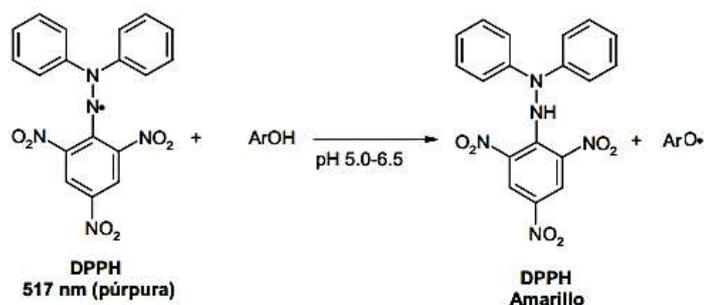


Figura 3. Antioxidantes como secuestradores de radicales libres

Fuente: (Sakakibara y col, 2003).

Por lo anterior, es importante determinar la cantidad, capacidad y especies de polifenoles en vegetales, frutos y tés. El número de polifenoles naturales se ha estimado en casi más de un millón, porque surgen generalmente como glicósidos, y las diferentes especies de azúcares y sus diferentes formas de enlaces generan una gran variedad. Sin embargo, la bioactividad se atribuye al fragmento aglicona no al azúcar (Sakakibara y col, 2003).

Los alimentos vegetales y las bebidas son el principal aporte de antioxidantes en la dieta. Los alimentos vegetales son ricos en fibra, esta última junto con los antioxidantes son dos temas que tanto en investigación como en desarrollo de productos se abordan separadamente (Saura, 2010). Los extractos obtenidos de los subproductos de la industrialización del maracuyá compuestos por la pulpa y las semillas o por el albedo presentan un alto contenido en fibra fundamentalmente insoluble, con ello, se considera importante revalorizar el consumo del maracuyá, introduciendo en la dieta diaria.

El maracuyá es una fuente rica en antioxidantes, este fruto presenta un importante contenido en fenoles y flavonoides totales, compuestos bioactivos fundamentalmente responsables, de las propiedades antioxidantes y antibacterianas (López, 2013).

La incorporación al organismo de ciertas oligoelementos como el cobre, hierro, cinc, selenio y manganeso, es una actividad necesaria, ya que forman parte del núcleo activo de las enzimas antioxidantes. Estudios han demostrado que la deficiencia de antioxidantes en el organismo puede obedecer, entre otras razones, a una dieta deficiente, a enfermedades que reducen la absorción de antioxidantes en la dieta, a una nutrición parenteral y a situaciones como la diálisis renal (Criado y Moya, 2011).

2.13. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos también conocidos como polifenólicos son sustancias orgánicas que poseen un anillo aromático, unidos a uno o más grupos hidroxilos (González, 2010).

Estos compuestos se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se sintetizan como metabolitos secundarios con funciones de defensa, y son en gran medida responsables de las propiedades del color, astringencia y el flavor (sabor y aroma) de los vegetales (Olaya y Mauricio, 2010).

Los antioxidantes se clasifican basándose en la función de su estructura química se pueden diferenciar dos grandes grupos:

- No flavonoides: fenoles no carboxílicos y ácidos fenoles derivados del ácido benzoico y del ácido cinámico.
- Flavonoides: antocianatos, flavonas, flavononas, flavonoles y taninos condensados.

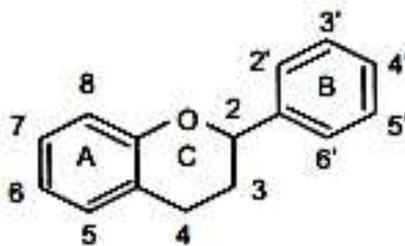


Figura 4. Flavonoide

Fuente: (Escamilla y col, 2009)

Desde el punto de vista de su influencia en el color de los vegetales hay dos grupos muy importantes distintos de flavonoides:

- Antocianos (antocianinas): son responsables de la mayoría de las coloraciones rojizas y azuladas de verduras y hortalizas, así como de los vinos.
- Antoxantinas (flavonas, flavonoles, flavanolas, flavononas): proporcionan coloraciones amarillas o pueden ser incluso incoloras (Poggio, 2012).

Se conocen aproximadamente 400 compuestos fenólicos presentes en la naturaleza, siendo los flavonoides el grupo más importante. Un número considerable de fenoles monocíclicos simples, quinonas fenólicas, xantonas se incluyen en esta clasificación, al igual que materiales poliméricos tales como ligninas, lignanos, melaninas y taninos. Los frutos expresan concentraciones altas de catequinas, ácidos cinámicos y flavonoles (González, 2010).

Diversas investigaciones caracterizan el género *Passiflora edulis* como una importante fuente de metabolitos secundarios, especialmente aquellos de naturaleza fenólica como polifenoles, flavonoides y antocianos, entre otros, siendo estos excelentes constituyentes de la dieta humana (Murillo y col, 2010).

Todos los polifenoles exhiben propiedades antioxidantes. Estos compuestos dan cuenta de la mayor parte de la actividad antioxidante que exhiben las frutas, las verduras y ciertas infusiones y bebidas naturales habitualmente consumidas por la población (Inta, 2010).

2.14. Capacidad antioxidante de las frutas

La capacidad antioxidante se basa en comprobar cómo un agente oxidante induce daño oxidativo a un sustrato oxidable, daño que es inhibido o reducido en presencia de un antioxidante (Soto y José, 2008).

A diferencia de la medición del contenido de un antioxidante determinado, la evaluación de la capacidad antioxidante de un fruto permite cuantificar la capacidad que tendrían todos los compuestos antioxidantes presentes en éste, para actuar simultáneamente como una mezcla de compuestos antioxidantes, los compuestos encontrados en frutas son las vitaminas, carotenoides, polifenoles entre otros (Inta, 2010). La capacidad antioxidante de frutas y verduras se debe al efecto combinado y sinérgico de todos ellos (Saura, 2010).

Los polifenoles son los compuestos antioxidantes mayoritarios en nuestra dieta con una ingesta estimada en 2000 a 3000 mg frente a los aproximadamente 150 mg correspondientes a vitaminas C, E y carotenoides (Saura, 2010).

Investigaciones han permitido la identificación de los compuestos fenólicos, carotenoides y vitamina C de los frutos como los responsables de la protección del fruto contra las sustancias oxidantes. La actividad química de los polifenoles que definen sus cualidades antioxidantes es producto de su capacidad de donar electrones y átomos de hidrogeno, así como su alta estabilidad y baja reactividad química en su forma oxidada.

La capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las frutas, tal como en la pulpa de maracuyá tiene interés desde el punto de vista tecnológico y nutricional. Así, los compuestos fenólicos intervienen como antioxidantes naturales de los alimentos, por lo que la obtención y preparación de alimentos con un alto contenido en estos compuestos, supone una disminución en la utilización de aditivos antioxidantes de origen sintético, a la vez que se obtienen alimentos más saludables, que incluso pueden llegar a clasificarse como alimentos funcionales (Olaya y Mauricio, 2010).

2.15. 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-picrilhidracil (DPPH), que posee un espectro de absorbancia característico, con un máximo de absorbancia a 517 nm según lo que describe la Figura 5, (Brand y col, 1995).

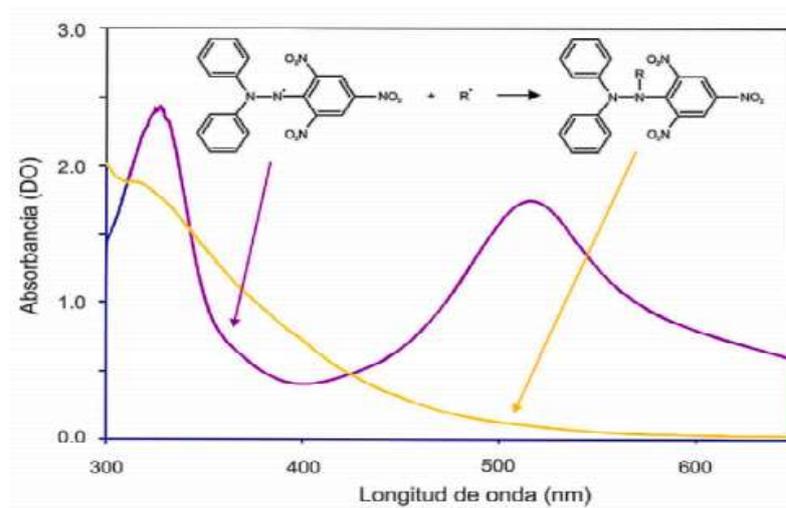
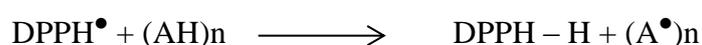


Figura 5. Estructuras y espectros del radical DPPH• (2-difenil-1-picril hidrazilo) (línea violeta) y de DPPH (2-difenil-1-picril hidrazilo) reducido (línea amarilla)

Fuente: (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.-difeníl-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 517 nm. (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-etilbenzotiazolin-6-sulfónico), sin embargo, el empleo del radical DPPH (2-difeníl-1-picril hidrazilo) en el método espectrofotométrico posee ventajas en simplicidad, reproducibilidad y rapidez (Brand y col, 1995).

CAPITULO III

3. METODOLOGIA

3.1. Delimitación

Campo Científico: Alimentos.

Área: Investigación básica.

Sub-área: Agrícola.

Sector: Maracuyá.

Sub-sector: Pulpa de maracuyá.

Espacial: Provincia de El Oro, cantón Santa Rosa.

3.2. Enfoque de la investigación

Esta investigación presentó un enfoque tanto cualitativo como cuantitativo. Cualitativo ya que este estudio determinó la presencia o ausencia de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante y cuantitativo por tanto evaluó 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 se puedan caracterizar según su contenido para que luego de un análisis revelen resultados significativos aportando información a investigaciones posteriores y así revalorizar este cultivo.

3.3. Diseño experimental

Se realizó un estudio experimental de un solo factor completamente al azar, siendo la variable respuesta: capacidad antioxidante.

3.3.1. Factor y niveles de estudio para la evaluación de la capacidad antioxidante

Tabla 5. Factor y niveles para la evaluación de la capacidad antioxidante de la pulpa del maracuyá

Muestra	Factor	Niveles
Pulpa de maracuyá	Factor A: Tipo de solvente	A ₀ : Agua A ₁ : Etanol

3.4. Tipo de muestra

Se recolectó el fruto maduro del Maracuyá (*Passiflora edulis*) de las parcelas previamente seleccionadas.



Figura 6. Fruto recolectado del sector Estero Medina

3.5. Descripción de la Investigación

3.5.1. Localización de la investigación

Este trabajo, se realizó en los laboratorios de la Unidad académica de Ciencias Químicas y de la Salud, de la Universidad Técnica de Machala. Para desarrollar esta investigación, se tomó 1 kg de muestra de maracuyá determinando el rendimiento de la pulpa, muestras cultivadas de las parcelas del sector Estero Medina, cantón Santa Rosa, provincia de El Oro, Ecuador.

3.5.2. Preparación de muestras

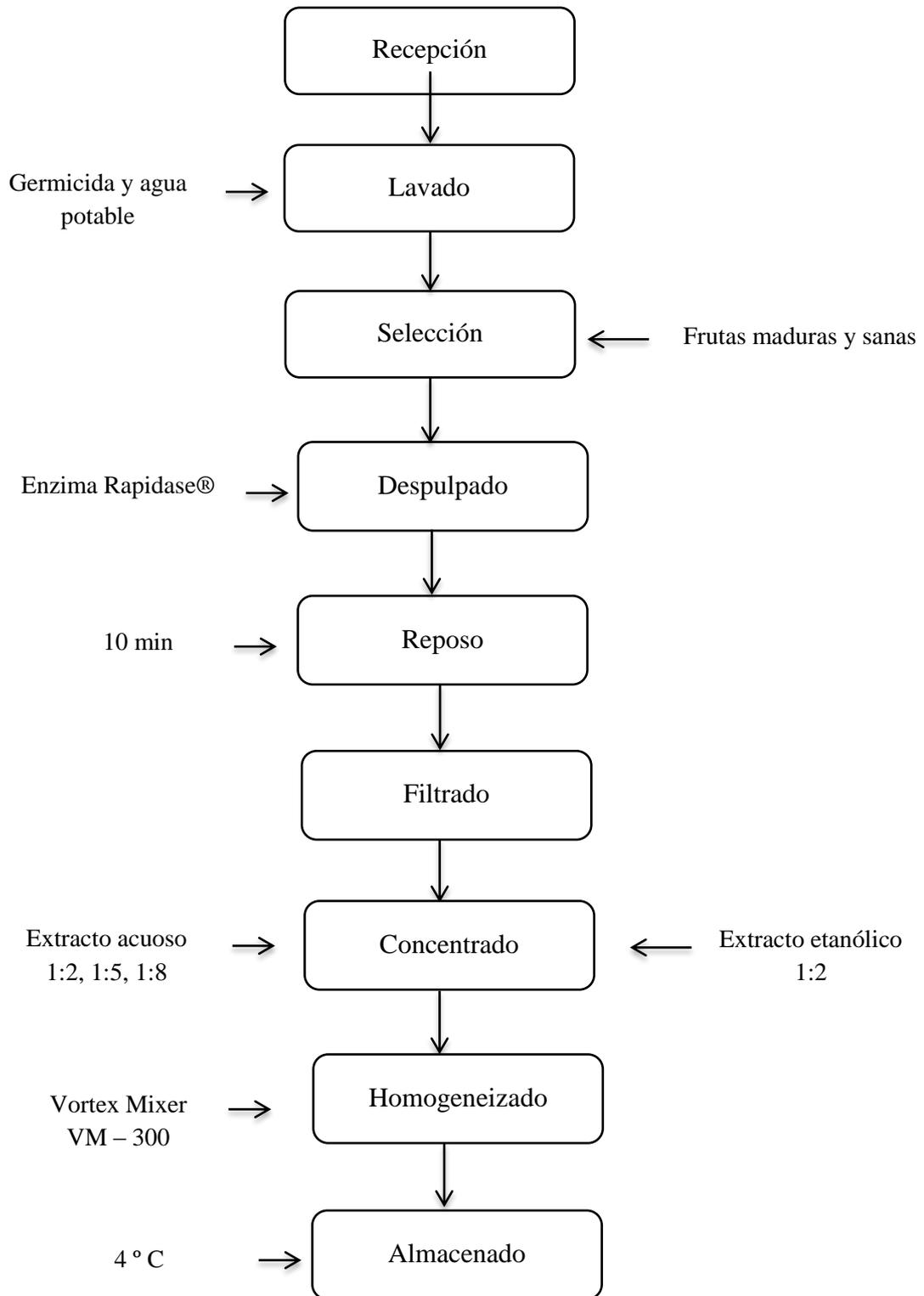


Figura 7. Protocolo para preparación de muestras

Las muestras seleccionadas estuvieron 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 N° 4, obteniéndose la pulpa extraída del maracuyá. De la muestra obtenida, se prepararon tres extractos acuosos y un extracto etanólico, en la Tabla 6 se muestra la concentración de los extractos en estudio. Finalmente, se homogenizaron con un equipo Vortex Mixer VM – 300.

Tabla 6. Concentraciones de los extractos acuosos y etanólico de la pulpa de maracuyá

Extracto	Volumen de pulpa (mL)	Volumen de solvente (mL)	Concentración
Etanólico	1	1	1:2
	1	1	1:2
Acuoso	1	4	1:5
	1	7	1:8

3.5.3. Materiales y equipos

- Cubetas de cuarzo
- Vasos de precipitación
- Tubos de ensayo
- Micropipetas
- Agitador magnético Velp Scientifica (HSC F20510101).
- Vortex Mixer VM – 300
- Potenciómetro Oakton 2700
- Espectrofotómetro Shimadzu, UV mini – 1240

- Colorímetro de reflectancia Chroma meter CR – 410
- Viscosímetro rotacional Fungilab
- Refractómetro Abbemat 200
- Estufa
- Mufla
- Balanza analítica

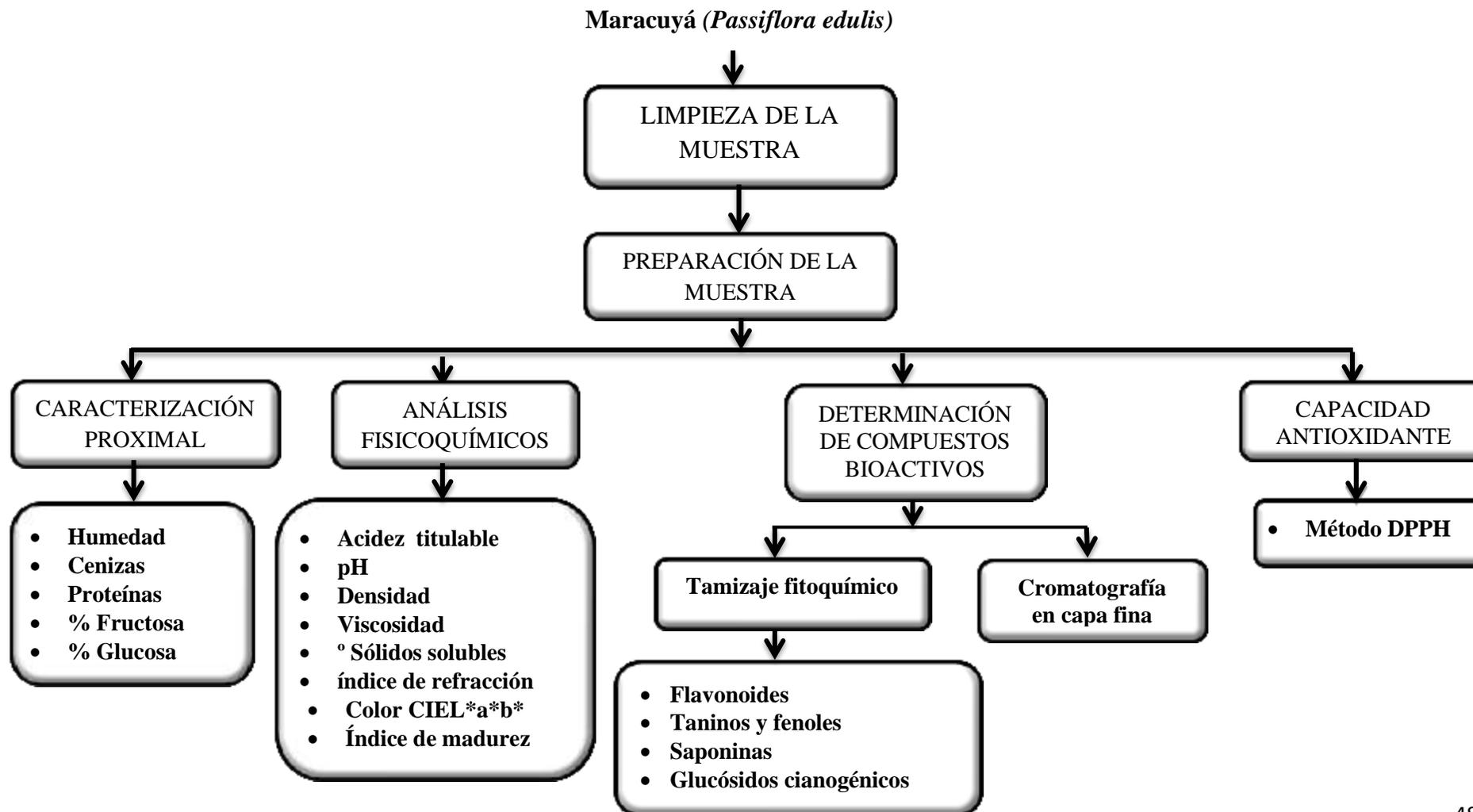
3.5.4. Tipo de investigación

Este trabajo investigativo, realizó un estudio correlacional, que permitió relacionar la presencia compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante de la pulpa de maracuyá. Para su efecto, el diseño de investigación que se empleó estuvo basado en la técnica de extracción con diferentes disolventes para establecer los contenidos antioxidantes de la pulpa de maracuyá (*Passiflora edulis*).

3.5.5. Protocolo general de la investigación

3.5.5.1. Diagrama de flujo general del proceso de investigación

Los métodos empleados en la investigación se detallan a continuación:



3.6. Métodos

3.6.1. Composición proximal

De acuerdo a la metodología de Silva (2008), se caracterizó la pulpa de maracuyá efectuando los análisis que se detallan a continuación:

Determinación de humedad

Se pesó independiente 10 g de pulpa y semillas de maracuyá en cápsulas de porcelana, posteriormente, las muestras se desecaron en estufa de vacío, a 105 °C durante 3 horas hasta peso constante, transcurrido el tiempo se colocaron en un desecador hasta el momento de proceder a pesar las muestras.

Determinación de cenizas

Se llevaron a la mufla muestras de 5 g de pulpa y semillas de maracuyá en diferentes crisoles de porcelana 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 minutos. Finalmente, se determinó el peso de las cenizas.

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 (Mixer 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 agito 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 patrón previamente elaborado con albúmina. Los valores se expresaron en mg/mL.

Determinación de glucosa y fructosa

Se prepararon soluciones de pulpa de maracuyá en tres diferentes concentraciones, 1:2, 1:5 y 1:8 disueltas en agua, se tomó 5 mL de cada una de las muestras indicadas y se colocó en el prisma del refractómetro Abbemat 200, a una temperatura de 25 °C, proyectando los resultados en porcentaje de glucosa y fructosa.

3.6.2. Análisis fisicoquímicos

Determinación de pH

De acuerdo a la norma INEN 2337:2008, se midió el pH con un potenciómetro (Oakton 2700) a diferentes concentraciones de una solución acuosa de maracuyá a una temperatura de 25 °C.

Determinación de acidez titulable

Se tomó muestras de 5 mL de pulpa de maracuyá, y muestras disueltas en agua en tres diferentes concentraciones 1:2, 1:5, 1:8, además 5 mL de concentración de muestra etanólica, caracterizándolas individualmente. 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 disolución y luego se adicionó 3 gotas del indicador de fenolftaleína, y finalmente se tituló con una solución valorada 0,1 N de NaOH, hasta la aparición de una débil coloración rosada persistente, que indicó el punto final de titulación.

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.

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.

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.

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.

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 y en las concentraciones acuosas de la pulpa del maracuyá, 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.

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:

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

3.6.3. Determinación de compuestos bioactivos

3.6.3.1. 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 compuesto 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 filtro 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.

3.6.3.2. 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 365 nm, se calentó en un agitador magnético Velp Scientifica (HSC F20510101).

3.6.4. 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 μM) 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 adiciono 1,5 mL del reactivo, posteriormente se homogeneizó y se realizó la medición del valor de absorbancia a 517 nm, como se muestra en la Figura 8.

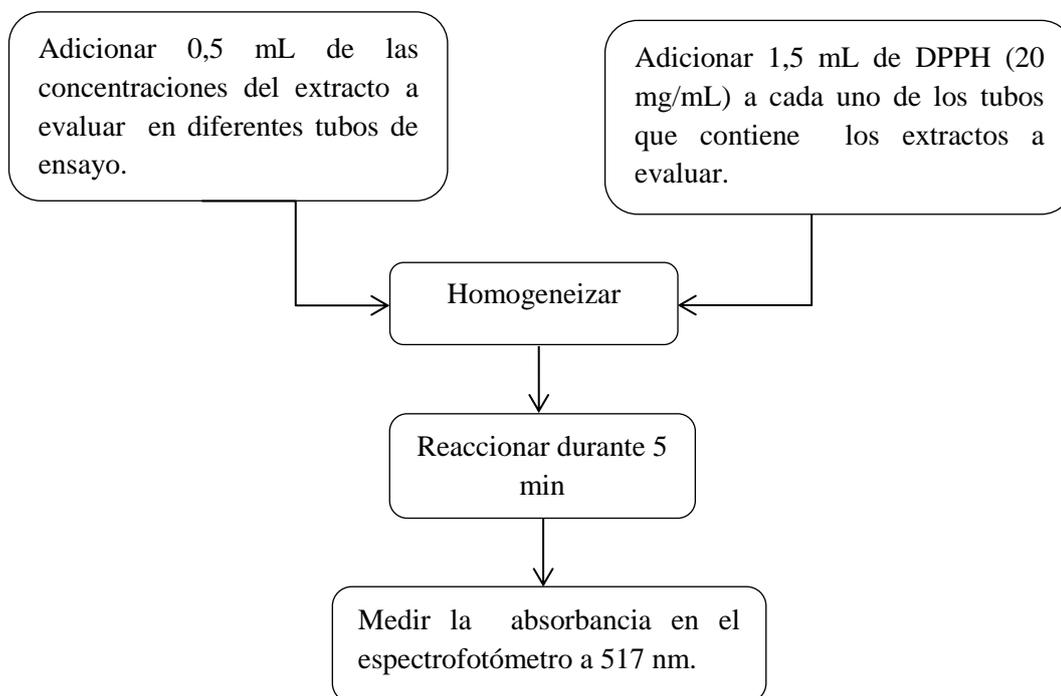


Figura 8. Evaluación de la capacidad antioxidante por el radical DPPH (2-difenil-1-picril hidrazilo)

3.7. Hipótesis general

El maracuyá (*Passiflora edulis*) contiene compuestos fenólicos que contribuyen a su capacidad antioxidante los cuales pueden ser utilizados en la elaboración de bebidas funcionales.

Hipótesis nula (H_0)

La capacidad antioxidante de los extractos de la pulpa del maracuyá (*Passiflora edulis*) no es dependiente del tipo de solvente, acuoso o etanólico, utilizado para extraer sus compuestos fenólicos.

Hipótesis alternativa (H_1)

La capacidad antioxidante de los extractos de la pulpa del maracuyá (*Passiflora edulis*) es dependiente del tipo de solvente, acuoso o etanólico, utilizado para extraer sus compuestos fenólicos.

3.8. Descripción de variables

Variables dependientes:

- Compuestos fenólicos
- Capacidad antioxidante

Variables independientes:

- Pulpa de maracuyá
- Diferentes concentraciones de la fruta
- Diferentes solventes de extracción

3.9. Interpretación de datos y análisis estadístico

Los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) utilizando el software estadístico Statgraphics Plus, versión 5.0 para determinar la capacidad antioxidante en la pulpa de maracuyá, y establecer la diferencia significativa ($p < 0,05$). Mediante la prueba post hoc Tukey se determinó si existió diferencia significativa entre las medias de los diferentes niveles, con un intervalo de confianza del 95%.

CAPITULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El maracuyá presentó una gran variabilidad en cuanto a tamaño y peso; con un valor promedio en peso de 160 g, longitud de 7,53 cm aproximadamente y diámetro de 7,03 cm aproximadamente.

El tratamiento enzimático con Rapidase®, presentó mejor resultado en cuanto al rendimiento en la extracción de la pulpa de maracuyá, con lo que se demuestra su efectividad en la industria de alimentos, sector de bebidas.

4.1. Composición proximal

Para caracterizar la pulpa de maracuyá se realizó el análisis de composición proximal de pulpa y semillas de la fruta. La composición proximal comprendió la determinación del contenido de humedad, cenizas, proteínas, fructosa y glucosa.

Tabla 7. Porcentaje de humedad y cenizas en la pulpa y semillas de maracuyá (*P. edulis*)

Muestra	Humedad (%)	Cenizas (%)
P. maracuyá	79,445	0,983
S. maracuyá	61,216	8,455

P: Pulpa, S: semillas.

En la Tabla 7, se puede observar los resultados obtenidos de humedad y cenizas del análisis de composición proximal, realizados a la pulpa y semillas del maracuyá (*Passiflora edulis*). Los resultados están expresados en porcentaje.

Al analizar el valor de humedad de pulpa y semillas del maracuyá se determinó que la pulpa contiene mayor porcentaje de agua que las semillas de la fruta. Con los datos obtenidos, se muestra la diferencia que existe entre los parámetros analizados de la fruta, resultado favorable para la investigación.

En cuanto a cenizas se observó que el porcentaje de residuo inorgánico fue más alto en las semillas del maracuyá en comparación con su pulpa, obteniendo un valor de 8,455 % de cenizas. Demostrando que la muestra de semillas contiene mayor cantidad de minerales que podrían ser óptimos para la formulación de subproductos del maracuyá.

Tabla 8. Concentración de albúmina para determinar el contenido de proteínas

Tubo	Volumen de Albúmina (mL)	Volumen de Agua (mL)
0	0,0	1,0
1	0,2	0,8
2	0,3	0,7
3	0,4	0,6
4	0,8	0,2

Se determinó la concentración de proteínas mediante el método de Lowry, tanto en el extracto acuoso como etanólico. Los valores obtenidos se extrapolaron a una curva patrón previamente elaborado con albúmina (Tabla 8). Los valores se expresaron en mg de proteínas/mL.

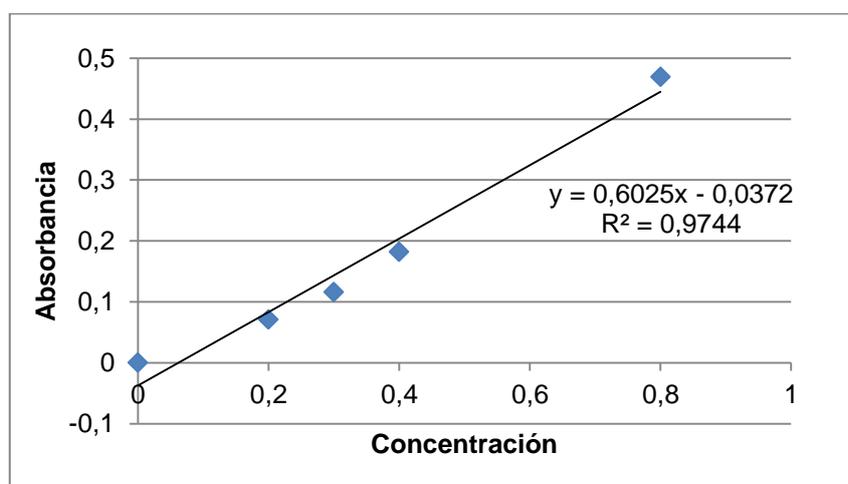


Figura 9. Curva patrón con Albúmina para cuantificación de proteínas

En la Figura 9 se muestra la curva patrón de Lowry para determinar la concentración de proteína tanto en el extracto acuoso como en el etanólico de la pulpa del maracuyá (*Passiflora edulis*).

Esta curva de calibración es de un margen lógico de concentración para la interpolación de resultados.

Tabla 9. Concentración de proteínas en el pulpa de maracuyá (*P. edulis*)

Muestra	Proteína (mg/mL)	Proteína (%)
E. Acuoso	6,31	0,32
E. etanólico	5,42	0,27

E: Extracto

La Tabla 9 muestra el contenido total de proteínas en la pulpa del maracuyá expresado en base húmeda. De acuerdo a los resultados obtenidos en la experimentación se observó que el porcentaje proteico en el extracto acuoso es mayor en comparación al extracto etanólico, valores lógicos de esperar, de acuerdo a la norma NTE INEN 2587:2011 de alimentos funcionales naturales.

Tabla 10. Porcentaje de fructosa y glucosa en la pulpa de maracuyá

Maracuyá	Fructosa (%)	Glucosa (%)
Pulpa	13,82±0,26	13,24±0,22
C. 1:2	6,0±0,10	5,93±0,22
C. 1:5	3,82±0,03	3,8±0,01
C. 1:8	2,92±0,01	2,86±0,00

C: concentración acuosa

En la Tabla 10, se muestra los valores expresados en base húmeda por triplicado con desviación estándar, de fructosa y glucosa presentes en las concentraciones acuosas de la pulpa del maracuyá (*Passiflora edulis*).

Las muestras analizadas demuestran su diferencia en cuanto a porcentaje de fructosa se refiere. Se determinó que la pulpa de maracuyá posee un porcentaje más elevado de fructosa (13,82 %), y según las concentraciones acuosas; la dilución 1:2 presentó (6,0 %) seguida de la dilución 1:5 (3,82 %) y finalmente la dilución 1:8 (2,92 %).

En cuanto al contenido de glucosa en las concentraciones acuosas de la pulpa del maracuyá (*Passiflora edulis*). Se demostró que la pulpa posee un porcentaje mayor de glucosa (13,24 %), en cuanto a las concentraciones acuosas; la dilución 1:2 presentó (5,93 %) seguida de la dilución 1:5 (3,8 %) y finalmente la dilución 1:8 (2,86 %). Lo que indica el alto poder edulcorante de la glucosa contenida en los extractos del maracuyá.

4.2. Análisis fisicoquímicos

Tabla 11. Determinación de pH, acidez y sólidos solubles en la pulpa maracuyá

Maracuyá	pH	Acidez (g/100g)	S. solubles (°Brix)
Pulpa	3,12±0,03	0,57±0,02	13,76±0,1
C. 1:2	3,28±0,03	0,42±0,01	5,92±0,1
C. 1:5	3,49±0,04	0,38±0,01	3,80±0,02
C. 1:8	3,54±0,02	0,26±0,01	2,85±0,01

C: Concentración acuosa, S: sólidos

En la Tabla 11 se observan los valores obtenidos de los análisis de pH, acidez y sólidos solubles, realizados a la pulpa de maracuyá, estos resultados se aproximan a los niveles óptimos de acidez y sólidos solubles que incluyen azúcares (dulzura) según la norma NTE INEN 2337:2008 para jugos de fruta. Siendo el pH un factor importante en la elaboración de bebidas y un indicador de la conservación de los alimentos, podemos determinar que al disminuir el valor del pH de un producto, aumente el periodo de conservación. Con los valores de pH obtenidos se puede

determinar que la pulpa de maracuyá a diferentes concentraciones acuosas posee un pH óptimo.

En la determinación de pH los resultados expresaron diferencias progresivas de acuerdo a la concentración acuosa. El valor de pH en la pulpa fresca y a una concentración acuosa de 1:8 fue de 3,12 y 3,54, respectivamente. Lo valores reportados se encuentran dentro de la norma CODEX STAN 247-2005. Esta característica se considera beneficiosa cuando se trata de conservar la pulpa, debido a que disminuye la susceptibilidad de este producto al ataque de los microorganismos, según lo expuesto por Sepúlveda y col (2002).

Una característica significativa del maracuyá es su alto contenido de acidez, el cual fue de 0,57 g en la pulpa fresca. Según la norma mexicana MX-F-045-1982, el valor de acidez para jugo de frutas es de 0,41 g. Las diferencias encontradas pueden ser por el suelo y estado de madurez del fruto, la acidez del maracuyá tiende a aumentar con el crecimiento del fruto y disminuir con la maduración del mismo.

Los datos provenientes del análisis de contenido de sólidos solubles (°Brix), variaron entre las concentraciones acuosas y la pulpa de maracuyá, con lo que se satisface una de las condiciones establecidas por la norma NTE INEN 2337:2008, la cual señala que para considerar un jugo en la categoría de concentrado, el contenido mínimo de sólidos solubles (°Brix) presentes, será por lo menos, un 50% más que el contenido de sólidos solubles en el jugo original.

Tabla 12. Determinación de índice de refracción, densidad y viscosidad en la pulpa de maracuyá

Maracuyá	Índice de refracción (nD)	Densidad (g/mL)	Viscosidad (mPas)
Pulpa	1,353±0,003	1,066±0,002	55±0,100
C. 1:2	1,341±0,000	1,035±0,0004	35±0,100
C. 1:5	1,338±0,001	1,021±0,001	20±0,100
C. 1:8	1,337±0,000	1,014±0,0002	11±0,100

C: Concentración acuosa

Continuando con los análisis fisicoquímicos los resultados reportados de índice de refracción, densidad y viscosidad de las muestras estudiadas indican una gran variabilidad entre ambas, esto se debe a la concentración de sólidos solubles de la pulpa donde se señala que la concentración 1:2 se aproxima a los valores expresados por la pulpa fresca de maracuyá.

Los valores de índice de refracción determinado en las distintas muestras investigadas, fueron expresados en nD (n veces más grande que el número de onda D). En la Tabla 11 se observa que el contenido de sólidos solubles presentes en las diversas concentraciones acuosas de la pulpa es proporcional al índice de refracción. Las concentraciones más altas presentan valores mayores, con ello se caracterizó a las concentraciones 1:2 y 1:5 como óptimas para la formulación de bebidas.

La densidad, ésta directamente relacionada con las concentraciones de la pulpa de maracuyá. La Tabla 12 muestra que la pulpa fresca presentó una densidad de 1,066 g/mL, mientras que la concentración acuosa 1:8 presentó una densidad de 1,014 g/mL. Estos resultados evidencian una disminución de la densidad del extracto según la concentración de solvente acuoso.

La viscosidad es una característica importante en la industria alimentaria, especialmente en los jugos de fruta ya que influye en el proceso de elaboración y aceptación del producto por el consumidor. Esta investigación presentó una viscosidad de la pulpa de maracuyá entre 40 – 60 mPas. Encontrándose dentro de los rangos establecidos por las normas INEN.

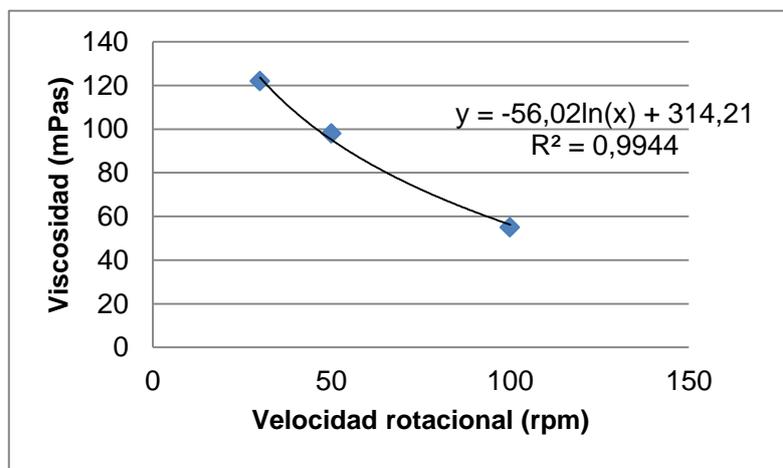


Figura 10. Cambio de viscosidad a diferentes velocidades de rotación

En la Figura 10, se observa que al graficar los valores de la velocidad de rotación expresada en rpm vs viscosidad, ésta presenta una curvatura, la cual es característico de los fluidos no newtonianos, y en forma particular de los pseudoplásticos. Éste tipo de fluidos muestran una disminución en la viscosidad, con un incremento en la velocidad de corte, según lo reportado por Guerrero (2008). Los resultados obtenidos en esta investigación comprueban el comportamiento no-newtoniano de la pulpa con características pseudoplásticas.

Tabla 13. Parámetros de color para el fruto y pulpa de maracuyá (*P. edulis*)

Maracuyá	L*	a*	b*	ΔE^*
Fruto 1	60,80	-8,65	44,37	47,43
Fruto 2	77,79	-0,55	56,73	50,90
Pulpa	48,35	7,06	26,70	45,26
C. 1:2	43,81	-0,93	20,73	46,82
C. 1:5	38,72	-2,30	11,73	50,11
C. 1:8	38,12	-2,17	9,15	50,54

C: concentración acuosa

En cuanto a los cambios de color, la Tabla 13 muestra la disminución en los parámetros L*, a*, b* con respecto al incremento de las diversas concentraciones acuosas de la pulpa fresca. Los valores obtenidos en esta investigación mostraron que el color de la pulpa fresca se debió principalmente a la contribución amarilla (valor positivo de b) y en menor proporción a la contribución roja (valor positivo de a) y la combinación de ambos arrojó como resultado un color amarillo intenso con tonalidades anaranjadas, debido principalmente a la presencia de pigmentos carotenoides y flavonoides que son generalmente de color amarillo.

La determinación del color en bebidas es de gran importancia en el mercado global, ya que éste es el primer atributo que perciben y valoran los consumidores. De acuerdo a la diferencia total de color (ΔE^*) que se reportó en la pulpa fresca y las concentraciones acuosas presentaron un valor medio de 2,14, con ello, se determinó

que los atributos de color más próximos a la pulpa fresca son de las concentraciones 1:2 y 1:5, estas presentan características importantes en cuanto a color, para su posible industrialización.

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

Con respecto a la madurez se caracterizó de acuerdo al color que el fruto presentó, se evaluó el color a la corteza y pulpa con el manejo de un colorímetro Chroma meter CR – 410. Dicha caracterización se realizó para indicar la madurez y punto óptimo de cosecha. La maduración del maracuyá va ligada al cambio de color, y por ello se utiliza como criterio para definir el índice de madurez. La transformación más importante es la dispersión del color verde, la cual está asociada con la síntesis de pigmentos cuyos colores oscilan entre el amarillo (carotenoides).

En esta investigación se evaluó el estado de madurez de dos frutos del maracuyá tomados al azar. Se los caracterizó de acuerdo a su color, del fruto 1 que presentó un estado de madurez menor, al fruto 2 con estado de madurez mayor. Al observar los valores $L^*a^*b^*$ para el fruto 1 y 2 en la Tabla 13, podemos determinar objetivamente que los maracuyá no igualan en color. Estos valores nos dicen que el Fruto 2 es un poco más oscuro, más amarillo y rojo que el Fruto 1. Con ello se encontró que las coordenadas colorimétricas $L^*a^*b^*$ incrementan a medida que el fruto madura, principalmente en los valores de brillo y saturación del color (L^*). Los resultados expresados en la Tabla 14, muestran que el contenido en sólidos solubles (°Brix) aumentó, mientras que la acidez titulable disminuyó, con ello, el índice de madurez aumentó progresivamente.

Tabla 14. Índice de madurez (IM) de frutos del maracuyá (*P. edulis*)

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

IM: Índice de madurez, S: Sólidos, 1: Fruto inmaduro, 2: Fruto maduro

Los resultados obtenidos confirman el trabajo de Pinzón y col (2007), afirmando 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.

En general, se encontraron correlaciones positivas altamente significativas del contenido de sólidos solubles con las variables acidez titulable e índice de madurez.

4.3. Determinación de compuestos bioactivos

Los ensayos aplicados para la identificación de los compuestos bioactivos, permitieron observar la presencia de compuestos de naturaleza fenólica, detectados en la pulpa de maracuyá (*Passiflora edulis*), tales como, flavonoides (ensayo de Shinoda); mostraron además taninos y/o fenoles (ensayo del cloruro férrico) y la presencia de saponinas (ensayo de la espuma), tanto en el extracto acuoso como etanólico. Los ensayos a la gota en todos los casos fueron confirmados a través de cromatografía en capa fina según la metodología recomendada por Aldana y Guayasamín (2014).

4.3.1. Tamizaje fitoquímico

Tabla 15. Determinación cualitativa de compuestos bioactivos en la pulpa de maracuyá

Compuestos	Pulpa de maracuyá	
	Extracto acuoso	Extracto etanólico
Flavonoides	+	++
Taninos y Fenoles	+	++
Saponinas	+	-
Glucósidos cianogénicos	-	-

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

Los parámetros que se evaluaron se muestran en la Tabla 15. Los ensayos realizados dejaron ver a los extractos estudiados como importantes fuentes de metabolitos secundarios, especialmente aquellos de naturaleza fenólica como flavonoides y taninos, a más de otros compuestos bioactivos significativos como saponinas.

De los extractos evaluados, el extracto etanólico presento compuestos identificados como fenólicos. Con lo que se conoce que la pulpa de maracuyá posee concentraciones importantes de compuestos antioxidantes, sin embargo, estas concentraciones se modifican en función del solvente utilizado durante su extracción. El extracto acuoso posee un poder extractivo relativamente más pequeño, comparado con el etanólico. Se utilizó el extracto etanólico, con la finalidad de contrastar la acción extractiva de ambos solventes, confirmando la presencia de compuestos fenólicos, no encontrando mayores diferencias entre solventes. Con ello, el solvente acuoso es una alternativa viable debido a su utilización para formulación de bebidas y su buena capacidad de extracción de compuestos antioxidantes.

El ensayo para determinar flavonoides, arrojó resultados positivos tanto en el extracto acuoso como en el extracto etanólico, en ambos casos se representó a flavonoides por la coloración tornada de la muestra a naranja intenso.

La muestra acuosa no expresó contenido de taninos, a diferencia de la etanólica que presentó concentraciones positivas, desarrollando una coloración verde intenso. Este efecto demuestra que la pulpa de maracuyá posee taninos condensados, los cuales no son hidrolizables. Según Vázquez y col (2012), la maduración del fruto también influye en el tipo y concentración de taninos.

Respecto al análisis de saponinas, los resultados en la prueba de espuma para el extracto acuoso se observó la formación de espuma abundante y estable, mientras que los resultados obtenidos en el extracto etanólico arrojó resultados negativos, lo cual se atribuye a que saponinas son insolubles en solventes apolares, facilitando su extracción con solventes más polares como los solventes etanólicos y acuosos.



Figura 11. Representación positiva de saponinas en extracto acuoso 1:2

En cuanto a glucósidos cianogénicos, la pulpa de maracuyá, especialmente el fruto verde contiene glucósidos cianogénicos en niveles tan bajos que no es de importancia toxicológica.

Christensen y Jaroszewski (2001); señalaron la presencia de glucósidos cianogénicos en las hojas del maracuyá, *Passiflora edulis*, de la clase de bencílicos beta-D-allopyranosides 1 y 2, representantes de glicósidos naturales con D-alosa como el único constituyente de azúcar. Declarando su alto contenido en las hojas del maracuyá, indicando ausencia en la pulpa. De acuerdo a los resultados negativos que arrojó el ensayo de Grignard, se determinó que la pulpa de frutos maduros no contiene dichos compuestos bioactivos, clasificando a la pulpa en estudio no tóxica, valores relacionados con la investigación señalada anteriormente.

4.3.2. Cromatografía en capa fina

Para realizar la cromatografía en capa fina se utilizaron cinco muestras en estudio; extracto etanólico (1:2), pulpa fresca y concentraciones acuosas (1:2, 1:5, 1:8), se enfatizó en los extractos etanólico y acuoso (1:2), ya que en ambas muestras se obtuvieron resultados positivos de flavonoides, para confirma la presencia de estos y otros compuestos bioactivos se utilizó esta técnica.



Figura 12. Técnica de cromatografía en capa fina

La corrida de las muestras sobre la placa, nos permite identificar que hay compuestos distintos entre las cinco poblaciones, en la primera banda, se confirmó una mayor concentración de compuestos en la pulpa fresca y en el extracto acuoso 1:2, mientras que se ven disminuidos en el extracto acuoso 1:5 y 1:8. En las dos últimas bandas predominan compuestos similares, excepto en la banda 2 que sólo predomina el extracto etanólico; los compuestos no fueron identificados, pero esto nos indica que hay grandes similitudes de los compuestos entre las tres poblaciones.

Tabla 16. Valores Rf de los extractos etanólico y acuoso separados por cromatografía en capa fina

Banda	Rf		Color
	Etanólico	Acuoso	
1	0,71	0,47	Amarillo
2	0,83	0,61	Amarillo
3	0,93	0,84	Amarillo
4	0,97	0,93	Amarillo

La Tabla 16 indica los Rf (factor de retardo de una muestra) correspondientes a las bandas resultantes de la técnica cromatografía en capa fina. Al reverar la placa se observaron manchas coloreadas amarillas de lo que se presume son flavonoides, metabolitos secundarios a los cuales se les atribuye alta capacidad antioxidante.

4.4. Determinación de la capacidad antioxidante

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

Con este método se analizó el efecto inhibidor del radical DPPH, por los extractos y se puede observar que los extractos polares (agua y etanol) muestran una capacidad óptima para atrapar al radical libre DPPH. Dicha capacidad, va disminuyendo de acuerdo a la polaridad. El extracto etanólico muestra un porcentaje de 36,3 y disminuye el porcentaje en el extracto acuoso siendo de 29,6. Los resultados de la capacidad antioxidante se expresaron como porcentaje de inhibición lo cual corresponde a la cantidad de radical DPPH neutralizado por el extracto a una determinada concentración.

Los valores obtenidos por este método se reportan como IC₅₀ (Concentración inhibidora máxima media) que corresponde a la concentración necesaria para inhibir en un 50% la absorbancia inicial del radical DPPH; los valores más bajos del IC₅₀ fueron del ácido ascórbico obteniendo un valor de 123,689 µg/mL presentando mayor capacidad antioxidante. Para ello, se utilizó la ecuación de regresión simple, obtenida de la relación entre el porcentaje de inhibición de radicales libres DPPH y la concentración de los extractos en estudio, incluido el valor IC₅₀ del ácido ascórbico.

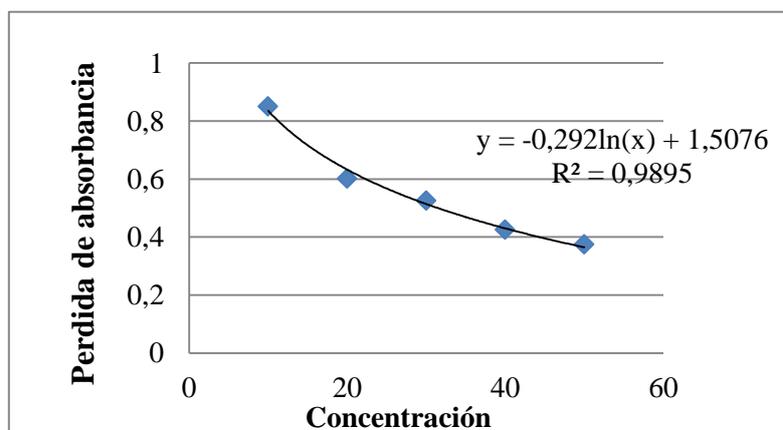


Figura 13. Curva patrón con ácido ascórbico para determinar la capacidad antioxidante

Se utilizó como patrón el ácido ascórbico por su alto poder antioxidante. En la Tabla 17, podemos observar que a una concentración de 116,43 mg a.a./g tiene una capacidad antioxidante del 44 %.

Tabla 17. Capacidad antioxidante de los extractos de la pulpa de maracuyá
(*Passiflora edulis*)

Extracto	% Inhibición	Concentración mg a.a./g	IC₅₀ µg/mL
Ácido ascórbico	44	116,43	123,689
Etanólico	36,3	116,45	130,397
Acuoso	29,6	116,53	141,180

a.a.: Ácido ascórbico

Los extractos etanólico y acuoso presentan el mismo comportamiento inhibitor del radical DPPH. Ambos extractos se estabilizan al alcanzar altas concentraciones, por ello se utilizó las concentraciones más bajas antes de llegar a su estabilidad. Esto se puede atribuir a la concentración constante de DPPH por lo cual aunque se incremente la concentración del extracto habrá un límite de decoloración.

Con los resultados obtenidos se puede determinar que ambos solventes polares estudiados en esta investigación, extrajeron compuestos bioactivos con una interesante capacidad antioxidante, sin embargo los porcentajes de inhibición fueron más altos en el extracto etanólico, debido a la naturaleza química de los compuestos antioxidantes.

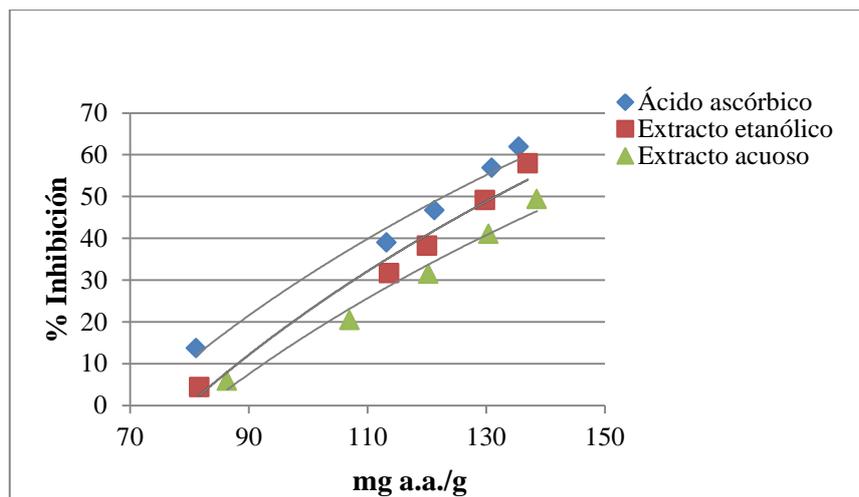


Figura 14. Correlación de % de inhibición de los extractos de la pulpa del maracuyá

En la Figura 14 se muestra la correlación entre los porcentajes de inhibición del radical DPPH por cada uno de los extractos. Estos resultados indican que tanto el extracto etanólico como acuoso fueron capaces de capturar radicales DPPH de una manera dependiente de la concentración.

4.5. Análisis estadístico

De acuerdo a los resultados obtenidos en la técnica de cromatografía en capa fina, que evidenció la presencia de compuestos bioactivos con alto poder antioxidante presentes en el extracto etanólico 1:2 y acuoso 1:2, se realizó el análisis estadístico para ambos extractos, empleando el programa estadístico Statgraphics Plus, versión 5.0,. Para ello, los datos se evaluaron con un análisis de varianza (ANOVA) de una vía y la prueba post hoc Tukey HSD con un nivel de significancia de $p < 0,05$.

4.5.1. Análisis de varianza

Tabla 18. Análisis de varianza (ANOVA) para los extractos de la pulpa de maracuyá

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Prueba F	Valor p
Inter-grupos	174,42	1	174,42	2111,20	1,34191E-6
Intra-grupos	0,3305	4	0,0826		
Total (Corr.)	174,751	5			

Dado que el valor P de la prueba F es menor de 0,05, hay una diferencia estadísticamente significativa entre la media del extracto etanólico y la media del extracto acuoso, en el nivel de confianza del 95,0%.

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

4.5.2. Prueba post hoc Tukey HSD

Tabla 19. Prueba post hoc Tukey HSD para los extractos de la pulpa de maracuyá

Tratamiento	Media	Varianza	N	Contraste	Diferencia	+/- Limites
Tratamiento 1	130,397	0,15043	3	T. 1 – T. 2	*-10,7833	0,651596
Tratamiento 2	141,180	0,0148	3			

T: Tratamiento, E: Extracto

* Denota una diferencia estadísticamente significativa.

En la Tabla 19, se observa la diferencia estimada entre cada par de medias, con ello, se determina que difieren significativamente entre sí.

4.6. Verificación de la hipótesis

Después de haber realizado el procesamiento, análisis e interpretación de los resultados obtenidos, en la determinación de la capacidad inhibidora del radical DPPH de los compuestos antioxidantes, se rechaza la hipótesis nula (H_0) y por consiguiente, se acepta la hipótesis alternativa (H_1), afirmando que la capacidad antioxidante de los extractos de la pulpa de maracuyá (*Passiflora edulis*) es dependiente del tipo de solvente; acuoso o etanólico, utilizado para extraer sus compuestos fenólicos.

CONCLUSIONES

- La corteza del maracuyá presentó diferencias de color más significativas que la pulpa del fruto. La pulpa siempre se mantuvo de color amarillo–naranja debido a la presencia de flavonoides.
- El contenido proteico del extracto acuoso fue de 6,31 mg/mL presentando un mayor contenido en comparación del etanólico el cual presentó 5,42 mg/mL de proteína.
- Según los datos obtenidos en esta investigación la pulpa de maracuyá posee un porcentaje óptimo de fructosa de 13,82. Con ello, indicamos que la fructosa le confiere el poder edulcorante a la pulpa de maracuyá y es una característica importante en la industrialización de la misma.
- De acuerdo a los resultados obtenidos en los análisis fisicoquímicos, la pulpa fresca de maracuyá (*Passiflora edulis*) presentó un pH de 3,12, un valor de acidez óptimo de 0,57 g de ácido cítrico, además 13,76 °Brix, 1,066 g/mL de densidad y una viscosidad de 55 mPas; valores óptimos de acuerdo a las normas INEN para la formulación de jugos a base del fruto estudiado.
- Los parámetros de color por el modelo CIEL*a*b* y diferencia total de color (ΔE^*), mostraron valores variables según el estado de madurez del fruto. Puesto que el color es un indicador importante en la maduración de frutos climatéricos. El fruto 1 mostró una ΔE^* de 47,43, mientras que el fruto 2 presentó una ΔE^* de 50,90.
- El análisis fitoquímico de los extractos de la pulpa del maracuyá (*Passiflora edulis*), reveló la existencia de flavonoides, saponinas, fenoles y taninos. En los extractos no se detectó la presencia de glucósidos cianogénicos. El contenido de flavonoides, fenoles y taninos en el extracto etanólico permite relacionar el compuesto en estudio con la potencial capacidad antioxidante referida para la formulación de bebidas funcionales a base de maracuyá (*Passiflora edulis*).

- Por medio de la técnica de cromatografía en capa fina se evidenció la presencia de compuestos bioactivos con alta capacidad antioxidante presentes en los extractos etanólico y acuoso a una concentración de 1:2.
- La capacidad antioxidante de los extractos de la pulpa del maracuyá (*Passiflora edulis*) es dependiente del tipo de solvente utilizado para extraer sus compuestos fenólicos. Los resultados obtenidos del ensayo DPPH, indicaron que el extracto etanólico 1:2 presentó mayor capacidad antioxidante, obteniéndose valores de IC₅₀ correspondientes a 130,397 µg/mL, muy cercanos a los del extracto estándar (ácido ascórbico).
- Las propiedades antioxidantes de los extractos de maracuyá podrían ser útiles en la conservación de alimentos evitando el uso de antioxidantes sintéticos como E102 Tartrazina o E300 ácido ascórbico, y el E322 Benzoato de sodio (aunque producen problemas toxicológicos) cuyo uso está ampliamente difundido en el comercio.

RECOMENDACIONES

- Evaluar otras partes del maracuyá para determinar si presentan mayor capacidad antioxidante, además de cuantificar sus compuestos bioactivos.
- Cuantificar los compuestos fenólicos, especialmente flavonoides y fenoles, identificados en el extracto etanólico 1:2.
- Desarrollar formulaciones de bebidas funcionales a base de pulpa del maracuyá (*Passiflora edulis*), en vista a la presencia de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante. De acuerdo a las características físico-químicas de la pulpa, evaluadas en esta investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- Abad, J., y Cabezas, D. (2014). Estudio de la actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial de las Hojas de *Piper pubinervulum* C.DC proveniente de Macas, Ecuador. Tesis de pregrado. Universidad Politecnica Salesiana. Quito, Ecuador. 47p.
- Abril, V. (2010). Maracuyá, Taxo y Granadilla: 15 recetas nuevas en la cocina. Tesis de pregrado. Universidad Estatal de Cuenca. Cuenca, Ecuador. 105p.
- Álvarez, D., y Cárdenas, J. (2010). Aplicación del método químico DPPH para determinar la capacidad antioxidante presente en una mermelada de Tuna. Tesis de pregrado. Universidad Estatal de Guayaquil. Guayaquil, Ecuador. 32 – 35p.
- 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.
- Andes. (2015). Ecuador apuesta posicionar el mundo de la producción de maracuyá. Obtenida el 01 de Marzo de 2015, de Agencia pública de noticias del Ecuador y Suramérica: <http://www.andes.info.ec/es/noticias.html/>
- Ashwell, M. (2002). Conceptos sobre los alimentos funcionales. International Life Sciences Institute. 83 (6), 42-45 p. ISBN: 1-57881-157-0.
- Azuero, A. y Troncoso, A. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Revista de Ciencia y Tecnología de alimentos. 26 (2), 25 – 26 p.
- Baizabal, R. (2010). Evaluación de la capacidad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial y del polvo de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) en queso fresco de vaca. Tesis de maestría. Universidad de las Américas Puebla. Puebla, México. 58p.
- Barahona, V. (2013). “Evaluación de la actividad antioxidante y valor nutracéutico de las hojas y frutos de la guanábana (*Annonamuricata*)”. Tesis de pregrado. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. 55 – 56p.

- Beltrán, A., Fonseca, O., y Guerrero, Y. (2007). Evaluación de la aplicación de la enzima pectinasa obtenida a partir de *Aspergillus niger*, en el proceso de producción de pulpa de Arazá (*Eugenia stipitatásororia*) concentrada al vacío. Tesis de pregrado. Universidad de la Salle. Bogotá, Colombia. 23p.
- Borja, C. (2008). Caracterización de las principales variedades de maracuyá (*Passiflora edulis*) en el Ecuador. Tesis de pregrado. Universidad Tecnológica Equinoccial. Quito, Ecuador. 21p.
- Borras, C. (2013). Técnicas de medición, ABTS y DPPH. Obtenido el 29 de Marzo de 2015, de Slideshare: <http://es.slideshare.net/carlosborras.htm>.
- 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.
- Cabrera, S. (2014). Potencial antioxidante y antimicrobiano de extractos acuosos e hidroalcohólicos de granadilla (*Passiflora ligularis*). Tesis de pregrado. Universidad del Tolima. Tolima, México. 26p.
- Calvo, M. (2010). Bioquímica de los alimentos. Obtenido el 24 de enero de 2015, de <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/.html>
- Carvajal, L., y Álvarez, J. (2011). Algunas especies de maracuyá y su capacidad antioxidante. Revista Cubana de plantas medicinales, 96 (12). p.p. 10p.
- Castañeda. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Lima: Revista Horizonte Médico. 40 (23). p.p. 92 – 95p.
- Christensen, J., y Jaroszewski, J. (2001). Glucósidos naturales que contienen allopironose de la planta de maracuyá y dicroísmo circular de glucósidos cianohidrina benzaldehído. Organic Letters. 12 (1). p.p. 30 – 35p.
- Cortés, A. (2004). Aplicación de enzimas en la producción industrial. Mundo alimentario. 62 (10). p.p. 22p.

- Criado, C., y Moya, M. (2011). Vitaminas y antioxidantes. *Saned*. 75 (5). p.p. 23p.
- Echavarría A.P, Ibarz A, Conde, Carles J, Torras C y Pagan J. (2012); Recuperación de la enzima y de los efluentes generados en la eliminación enzimática de la obstrucción de la torta de pectina en proceso de filtración. *Revista de ingeniería de alimentos*, 111(1): 52-56p.
- Echavarría A.P, Ibarz A, Conde J, Torras C y Pagán J (2012). Optimización de la metodología de superficie de respuesta a la eliminación enzimática de la obstrucción de una membrana de microfiltración por pastel pectina Internacional. *Revista de ciencia y Tecnología de Alimentos* 47, 47–52p.
- Echavarría A.P, Ibarz A, Conde J, Torras C y Pagán J (2011) “Procesamiento de jugo de frutas y aplicación de tecnología de membrana”, *Revista de ingeniería de alimentos*, 3(3-4): 136-158- DOI: 10.1007/s12393-011-9039-3.
- Elizalde, M. (2011). Manejo de poscosecha de maracuyá. Tesis de pregrado. Universidad Técnica de Machala. Machala, Ecuador. 27p.
- Escamilla, C., Cuevas, E., y Guevara, J. (2009). Flavonoides y sus acciones antioxidantes. 52 (2). 68p.
- Espinal, M. (2010). Capacidad antioxidante y ablandamiento de la guayaba palmiraica (*Psidium guajava*). Tesis de pregrado. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 15 – 17p.
- Ferreira, S., y Millán, M. (2000). Obtención, Conservación y determinación de las características de calidad de pulpa congelada, néctar dietético y fortificado de maracuyá. *Revista colombiana de Ciencias Químico – Farmacéuticas*. 11 (21). p.p. 54 p.
- Ferrer, D., Fonseca, C., y Arce, D. (1992). Radicales libres y su papel en la homeostasia neuronal. *Medisan*. 33 (2). p.p. 10p.
- Flores, E. (2004). Desarrollo de una Bebida Funcional de Maracuyá (*Passiflora edulis f. flavicarpa*). Tesis de maestría. Universidad de las Américas Puebla. Puebla, México. 25p.

Franco, D., y Moure, A. (2010). Antioxidantes naturales: Aspectos saludables, toxicológicos y aplicaciones industriales. Editorial Xunta de Galicia. ISBN: 978-84-453-4963-2. p.p. 102p.

Frau, L. (2011). Estudio del efecto de la Microfiltración tangencial del jugo de naranjilla variedad INIAP Quito 2009, sobre las características físico - químicas, sensoriales, microbiológicas y capacidad antioxidante. Tesis de pregrado. Universidad Tecnológica Equinoccial. Quito, Ecuador. 36p.

González, B. (2002). Tendencias en la producción de alimentos: alimentos. Respyn. ISBN: 5-2135-0231-5. 42 (1). p.p. 1 – 3p.

González, F. (2010). Caracterización de compuestos fenólicos presentes en la semilla y aceite de chía (*Salvia hispanica* L.), mediante electroforesis capilar. Tesis de pregrado. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Distrito Federal de México, México. 45p.

González, M., y Álvarez, V. (2009). Proyecto de factibilidad para la producción y exportación de concentrado de maracuyá a los mercados de Holanda y Alemania. Tesis de pregrado. Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí. Manta, Ecuador. 24p.

Guerrero, A. (2008). Influencia de la Temperatura en la Inactivación de la Pectinmetilesterasa Durante Tratamiento Térmico en la Pulpa de Badea (*p. quadrangularis*). Tesis de pregrado. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador. 12p.

Guerrero, C. (2012). Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante en fibra dietética extraída de cultivos ancestrales andinos para su utilización como suplemento alimenticio. Tesis de pregrado. Universidad Técnica de Ambato. Ambato, Ecuador. 23-24p.

Gutiérrez, D., Ortiz, C., y Mendoza, A. (2008). Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. Simposio de Metrología. p.p. 1-5p.

Hernández, E. (1997). Aplicación de un modelo descriptivo durante la evaporación del jugo de maracuyá en un sistema CTIB. Tesis de pregrado. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 32-33p.

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, Período 2011- 2014. Tesis de pregrado. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. 24-28p.

INEN. Alimentos funcionales. AL 05. 07-401. CDU: 612 292. CIIU: 3121. ICS: 67.040. Quito: INEN, 2011.

Ibarz A, Barbosa-Cánovas GV. (2005). Operaciones unitarias en la ingeniería de alimentos. Mundi-Prensa. Madrid, España. 318–325p.

Importancia de los antioxidantes en la preservación de los alimentos. (2010) Obtenido el 05 de Marzo de 2015, de INTA. http://www.portalantioxidantes.com/?qa_faqs=%C2%.htm

Inteligencia de mercado del maracuyá. (2012). Obtenido el 03 de Marzo de 2015, de La Libertad: <http://www.agrolalibertad.gob.pe/sites/default/files/htm>.

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.

López, S., y Santana, J. (2006). Producción y comercialización de la maracuyá, para propender a incrementar los productos exportables desde la provincia de Manabí. Tesis de pregrado. Universidad laica Eloy Alfaro de Manabí. Manta, Ecuador. 39p.

López, V., y Vélez, A. (2013). Ácido cítrico y clorhídrico en las características físico-químicas de pectina obtenida de albedo de maracuyá (*Passiflora edulis*). Tesis de pregrado. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. Calceta, Ecuador. 21 – 23p.

- Loor, R., y Miño, N. (2012). Determinación de la capacidad antioxidante de la nuez de macadamia mediante el método DPPH, obtención de su aceite aplicando la técnica soxhlet y sus aplicaciones en los productos alimenticios y cosméticos. Tesis de pregrado. Universidad de Guayaquil. Guayaquil, Ecuador. 45p.
- Lutz, M., y León, A. (2009). Aspectos nutricionales y saludables de los productos de panificación. Tesis de pregrado. Universidad de Valparaíso. Valparaíso, Chile. 12p.
- Marcelo, J. (2009). Cultivo de maracuyá. Tesis de pregrado. Gerencia Regional Agraria La libertad. Trujillo, Perú. 20p.
- Martínez, A. (2001). Saponinas estereoides. Tesis de pregrado. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. 10-15p.
- Martínez, J. (2007). Evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de *Heliocarpusterebinthinaceus*. Tesis de pregrado. Universidad Tecnológica de la Mixteca. Huajuapán de León, México. 36-38p.
- Menéndez, O., Evangelista, S., Arenas, M., Bermúdez, K., Del Villar, A., y Jiménez, A. (2006). Cambios en la actividad de amilasa, pectinmetilesterasa y poligalacturonasa durante la maduración del maracuyá (*Passiflora edulis var. flavicarpa degener*). Interciencia. ISBN: 1-22369- 231-2. 93 (55). p.p. 729 – 730 p.
- Méxicocert. (2007). Usos alimentarios del maracuyá. Agroentorno. 65 (32). p.p. 2 p.
- Middleton, E., Kandaswami, C., y Theoharide, T. (1997). Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. Department of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Tufts. 116 (1). p.p. 12 – 13p.
- Miranda, M. (2002). Métodos de análisis de drogas y extractos. Tesis de pregrado. Universidad de La Habana. La Habana, Cuba. 68 -69p.
- Muñoz, M., & Gutiérrez, D. (2004). Determinación de actividad antioxidante de diversas partes del árbol Nicotiana Glauca. Tesis de pregrado. Universidad Autónoma de Querétaro. Santiago de Querétaro, México. 88p.

Naranjo, E. (2014). Bebidas funcionales, "Una necesidad saludable". IALIMENTOS. ISBN: 9-7845-1447-3. 67 (23). p.p. 12p.

Oda, L. (2013). Principales tendencias de bebidas no alcohólicas en la región. Obtenido el 04 de Marzo de 2015, de América económica: <http://www.americaeconomia.com/negocios.htm/>.

Olaya, J., y Mauricio, E. (2010). La guayaba, fuente de fenoles con actividad antioxidante. Tesis de pregrado. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia. 30p.

Osterloh, A., Ebert, G., Held, W., Schulz, H., Urban, E. (1996). El almacenamiento de frutas y frutos tropicales. VerlagUlmer (Stuttgart). 119 (7). p.p. 253p.

Paladino, S. (2010). Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vida (*Vitisvinifera L.*). Tesis de pregrado. Universidades Nacionales de Cuyo. Mendoza, Argentina. 69p.

Pagan I Gilabert J.(1998). Degradación enzimática y características físicas y químicas de la pectina del bagazo de melocotón. ISBN: 8489727783 p.p. 159p.

Poggio, M. (2012). Consumo de antioxidantes naturales en personas con dislipidemia. Tesis de pregrado. Universidad Abierta Interamericana. Rosario, Argentina. 58 – 59p.

Pozo, A. (2006). Estudio de prefactibilidad para la exportación de concentrado cítrico de maracuyá, al mercado de Alemania, período 2006-2015. Tesis de pregrado. Tecnológica Equinoccial. Quito, Ecuador. 22p.

Propiedades del maracuyá. (2010). Obtenido el 01 de Marzo de 2015, de Botanical: <http://www.botanical-online.com/propiedadesmaracuya.htm>.

Pruthi, J. (1963). Fisiología, Química y Tecnología de Fruta de la Pasión. Avances en la Investigación de Alimentos. 45. p.p. 63p.

Rivadeneira, F. (2014). La importación de jugo de maracuyá en alza en R.P. China. ProEcuador. 4 (11).ISSN 1390-812X. p.p. 17-18p.

Rojas, J. (2009). Estudio preclínico y clínico de la seguridad y actividad antihipertensiva de *Passiflora edulis Sims* (maracuyá). Tesis de pregrado. Universidad Nacional mayor de San Marcos. Lima, Perú. 56-57p.

Rojas, J., Martínez, J. a., y Stashenko, E. (2014). Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de extractos de mora (*RubusglaucusBenth*) obtenidos bajo diferentes condiciones. *Interciencia*. 55 (3). p.p. 25p.

Romero, I. (2008). Extracción de compuestos fenólicos de la uva. Papel de los enzimas de maceración. Tesis de pregrado. Universidad de Murcia. Murcia, España. 25-28p.

Romero, T. (2013). Determinación de la actividad antioxidante de una mezcla de extractos frutales. Tesis de pregrado. Universidad Autónoma del estado de México. Toluca, México. 18p.

Sakakibara H., Honda Y., Nakagawa S., Ashida H., y Kanazawa K. (2003). Determinación simultánea de todos los polifenoles en verduras, frutas y té. *J. Revista de agricultura y química de alimentos*. 51. p.p. 571-581p.

Sánchez, W., Murillo, E., y Méndez, J. (2010). Potencial antioxidante de residuos agroindustriales de tres frutas de alto consumo en el Tolima. Tesis de maestría. *Scientia et Technica*. Tolima, México. 25p.

Saura, F. (2010). Contribución de las bebidas a la ingesta de antioxidantes en la dieta mediterránea. *Antioxidantes naturales. Aspectos saludables, toxicológicos y aplicaciones industriales*. 99 (3). p.p. 25 – 26p.

Sepúlveda, J., Flórez, L., y Peña, C. (2002). Utilización de lactosuero de queso fresco en la elaboración de una bebida fermentada con adición de pulpa maracuyá (*Passiflora edulis*) variedad púrpura y carbóximetil celulosa (CMC), enriquecida con vitaminas A y D. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*. 1644. p.p. 63-64p.

Silva, C., Silveira, M., Riveros, R., y Zeni, M. (2004). Concentración de pectinasas por ultrafiltración con membranas de polisulfonas. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 8961. p.p. 4-6p.

Soto, A., y José, R. (2008). Determinación de la capacidad antioxidante de vinos mediante análisis de inyección en flujo con detección amperométrica. Asociación Mexicana de Química Analítica. A. C. 2356. p.p. 52p.

Toapanta, S. (2012). Cambios en la capacidad antioxidante durante el almacenamiento refrigerado de uvilla (*Physalis peruviana L.*) Orgánica sin capuchón tratada con radiación UV-C. Tesis de pregrado. Universidad Tecnológica Equinoccial. Quito, Ecuador. 56p.

Vaclavik, V. (2002). Fundamentos de ciencia de los alimentos. Zaragoza: Acribia. 362. p.p. 45p.

Vázquez, A., Álvarez, E., López, J., Wall, A., y De la Rosa, L. (2012). Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. Tecnociencia. 485. p.p. 88 – 89p.

ANEXOS

ANEXO N° 1

Proceso de homogenizado de la pulpa y extractos acuosos de maracuyá (*P. edulis*) en equipo Vortex Mixer VM – 300



Figura 15. Homogenizado de la pulpa y extractos acuosos de maracuyá (*P. edulis*)

ANEXO N° 2

Análisis físico – químicos en la pulpa de maracuyá (*P. edulis*)



Figura 16. Determinación de acidez en la pulpa de maracuyá



Figura 17. Determinación de densidad en la pulpa de maracuyá (*P. edulis*)

ANEXO N° 3

Determinación de proteínas en el extracto etanólico por el método de Lowry



Figura 18. Complejo de color azul por la reducción del reactivo Folin – Denis

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

ANEXO N° 4

Determinación cualitativa de compuestos bioactivos en extractos acuosos y etanólico



Figura 19. Determinación de fenoles y taninos

Determinación de fenoles y taninos en el extracto acuoso 1:2 mediante ensayo del cloruro férrico



Figura 20. Corrida de extractos acuosos y etanólico en la placa de cromatografía en capa fina

ANEXO N° 5

Curva patrón de ácido ascórbico para determinación de capacidad antioxidante



Figura 21. Medición de absorbancia de las concentraciones de ácido ascórbico

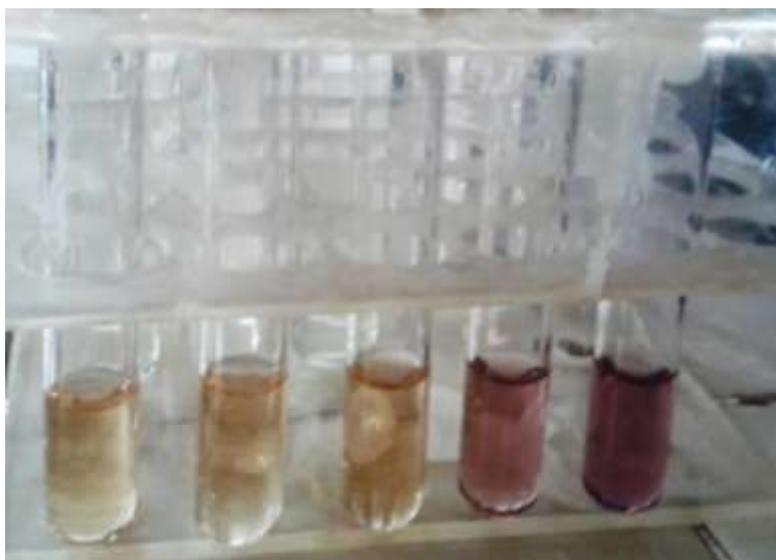


Figura 22. Reducción del radical DPPH

Reducción del radical DPPH en las concentraciones de 50, 40, 30, 20 y 10 μM , monitoreada por la disminución en la absorbancia a una longitud de onda a 517 nm.