

Universidad Nacional
Federico Villarreal

Vicerrectorado de
INVESTIGACIÓN

ESCUELA UNIVERSITARIA DE POST GRADO

**“DISEÑO DE UNA BEBIDA FUNCIONAL CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE A
BASE DE PULPA DE MANGO (*Mangifera indica L.*), NONI (*Morinda citrifolia*) Y
AGUAYMANTO (*Physalis peruviana L.*)”**

TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS

AUTOR:

SARELA CARMELA ALFARO CRUZ

ASESOR:

DR. LUIS ALBERTO CONDEZO HOYOS

JURADO:

DR. FLORES VIDAL HIGINIO EXEQUIEL

DR. INCHE MITMA JORGE LUIS

DRA. NAUPAY VEGA MARLITT FLORINDA

LIMA – PERÚ

2019

2.2.1.4. Alimentos funcionales y salud	25
2.2.1.5. Mercado de alimentos funcionales	27
2.2.2. Frutas como alimentos funcionales	29
2.2.2.1. Componentes bioactivos o fitoquímicos en frutas	31
2.2.2.1.1. Polifenoles	33
2.2.2.1.2. Carotenoides	37
2.2.2.2. Mango (<i>Mangifera indica</i> L)	43
2.2.2.2.1. Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante del mango	45
2.2.2.3. Noni (<i>Morinda citrifolia</i>)	47
2.2.2.3.1. Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante del noni.....	49
2.2.2.4. Aguaymanto (<i>Physalis peruviana</i> Linnaeus),	52
2.2.2.4.1. Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante del aguaymanto	54
2.2.3. Antioxidantes.....	56
2.2.3.1. Definición.....	56
2.2.3.2. Tipos de antioxidantes.....	56
2.2.3.3. Métodos in vitro de evaluación de capacidad antioxidante.....	58
2.2.4. Optimización de bebidas funcionales	62
2.2.4.1. Definición.....	62
2.2.4.2. Diseño y optimización.....	63
2.2.4.2.1. Definición de la metodología de superficie de respuesta	63
2.2.4.2.2. Etapas de la optimización mediante el Método de Superficie de Respuesta (MSR)	63
2.2.4.3. Diseño de productos y formulación: experimentos con mezclas	67
2.2.5. Estabilidad en almacenamiento de la bebida funcional óptima.....	70
2.2.5.1. Estabilidad de compuestos bioactivos	70
2.2.5.2. Estabilidad microbiológica.....	75
2.3. Aspectos de responsabilidad social y medio ambiental.....	777
CAPITULO III	MÉTODO
3.1 Tipo de investigación.....	79

3.2. Población y muestra	80
3.3. Hipótesis	81
3.3.1. Para el diseño y optimización de la bebida funcional mixta con capacidad antioxidante.....	80
3.3.2. Para la determinación de los compuestos antioxidantes y la capacidad antioxidante de las pulpas de mango, noni y aguaymanto.	81
3.3.3. Para la optimización de proporción de las pulpas de mango, noni aguaymanto para obtener una bebida funcional maximizando la capacidad antioxidante y sus atributos sensoriales.....	81
3.3.4. Para la evaluación de la estabilidad de la bebida funcional antioxidante óptima en condiciones aceleradas de almacenamiento.....	82
3.4. Operacionalización de variables	83
3.4.1. Independientes	83
3.4.2. Dependientes.....	83
3.5. Instrumentos	83
3.5.1. Equipos	84
3.5.2. Materiales	85
3.5.3. Reactivos.....	86
3.5.4. Técnica documental o bibliográfica.....	87
3.6. Procedimientos.....	87
3.6.1. Diseño de la investigación	87
3.6.2. Caracterización fisicoquímica de la materia prima	89
3.6.3. Compuestos antioxidantes	89
3.6.4. Capacidad antioxidante.....	94
3.6.5. Optimización de la bebida funcional antioxidante mediante la metodología de superficie de respuesta (MSR).....	95
3.6.6. Estabilidad en almacenamiento de la bebida funcional antioxidante optima	97
3.6.7. Acondicionamiento de las pulpas de fruta.....	98
3.6.8. Procesamiento de las bebidas funcionales antioxidantes.....	100

3.7. Análisis de datos	103
CAPITULO IV	RESULTADOS
4.1. Contrastación de Hipótesis	104
4.1.1. Caracterización Fisicoquímica de pulpas de frutas	104
4.1.2. Compuestos antioxidantes de las pulpas de frutas.....	107
4.1.2.1. Ácido ascórbico	108
4.1.2.2. Fenólicos totales	109
4.1.2.3. Carotenoides	110
4.1.3. Capacidad antioxidante de las pulpas de frutas	114
4.1.4. Optimización de la bebida funcional antioxidante mediante la metodología de superficie de respuesta.....	116
4.2. Análisis e interpretación	116
4.2.1. Efecto de la proporción de las pulpas de frutas sobre la capacidad antioxidante y los atributos sensoriales.....	123
4.2.2. Optimización de la bebida funcional antioxidante	128
4.2.3. Estabilidad en almacenamiento de la bebida funcional antioxidante optimizada .	132
4.2.3.1. Carotenoides totales, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante.....	132
4.2.4. Color de las bebidas durante almacenamiento.....	136
4.2.5. Análisis microbiológico durante el almacenamiento.....	143
CAPITULO V	DISCUSIÓN DE RESULTADOS
5.1. Discusión.....	145
5.1.1. Caracterización fisicoquímica	145
5.1.2. Compuestos antioxidantes de las pulpas.....	147
5.1.2.1. Ácido ascórbico	147
5.1.2.2. Fenólicos totales	150
5.1.2.3. Carotenoides totales	152
5.1.3. Capacidad antioxidante de las pulpas	154
5.1.4. Optimización de la bebida funcional antioxidante mediante la metodología de superficie de respuesta.....	157

5.1.4.1. Modelos de regresión	157
5.1.5. Efecto de la proporción de pulpas sobre la capacidad antioxidante y los atributos sensoriales.....	158
5.1.6. Optimización de la bebida funcional antioxidante	160
5.1.7. Estabilidad en almacenamiento de la bebida funcional antioxidante optimizada .	161
5.1.7.1. Carotenoides totales, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante.....	161
5.1.7.2. Color.....	163
5.1.7.3. Análisis microbiológico.....	164
5.2. Conclusiones.....	166
5.3. Recomendaciones.....	167
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	169
ANEXOS	189

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1	INVESTIGACIONES RELACIONADAS CON EL CONSUMO DE CAROTENOIDES Y LA INCIDENCIA DE CÁNCER.....	42
TABLA 2	CONTENIDO DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL MANGO (MANGIFERA INDICA L.) EN 100 G.....	47
TABLA 3	CONTENIDO DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN PULPA DE NONI (MORINDA CITRIFOLIA).....	50
TABLA 4	COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL AGUAYMANTO (PHYSALIS PERUVIANA L.).....	55
TABLA 5	CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL AGUAYMANTO (PHYSALIS PERUVIANA L.)	55
TABLA 6	MECANISMOS DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	57
TABLA 7	LONGITUD DE ONDA DE MÁXIMA ABSORCIÓN ($\lambda_{MÁX}$), LONGITUD DE ONDA DE MÁXIMA ABSORCIÓN EN ACETONA (λ_{AD}), COEFICIENTE DE ABSORCIÓN MOLECULAR (E) Y PESO MOLECULAR (M) DE LOS PRINCIPALES CAROTENOIDES PRESENTES EN FRUTAS Y HORTALIZAS.....	91
TABLA 8	DISEÑO D-OPTIMA PARA OPTIMIZAR LA BEBIDA FUNCIONAL ANTIOXIDANTE.....	96
TABLA 9	ESCALA HEDÓNICA PARA LA EVALUACIÓN SENSORIAL DE ACEPTABILIDAD.	97
TABLA 10	CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE PULPAS DE MANGO. LOS VALORES REPRESENTAN EL PROMEDIO \pm DESVIACIÓN ESTÁNDAR (N=3).....	105
TABLA 11	CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE LA PULPA DE NONI. LOS VALORES REPRESENTAN EL PROMEDIO \pm DESVIACIÓN ESTÁNDAR (N=3).....	106
TABLA 12	CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE LA PULPA DE AGUAYMANTO. LOS VALORES REPRESENTAN EL PROMEDIO \pm DESVIACIÓN ESTÁNDAR (N=3).....	107
TABLA 13	VALORES ACIDO ASCÓRBICO PARA PULPA DE MANGO, AGUAYMANTO, Y NONI...	108

TABLA 14	CONTENIDO DE FENÓLICOS Y CAROTENOIDES TOTALES DE LAS PULPAS DE MANGO, AGUAYMANTO Y NONI.....	111
TABLA 15	CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE PULPAS DE MANGO, AGUAYMANTO Y NONI.....	114
TABLA 16	DISEÑO D-OPTIMA PARA OPTIMIZAR LA MEZCLA DE PULPA DE MANGO, AGUAYMANTO Y NONI EN LA FORMULACIÓN DE LA BEBIDA FUNCIONAL ANTIOXIDANTE. LOS ALORES DE LAS VARIABLES RESPUESTA SON EL PROMEDIO (N=3).....	117
TABLA 17	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL MODELO CÚBICO ESPECIAL DEL ANÁLISIS DE REGRESIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS BEBIDAS FORMULADAS.	118
TABLA 18	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL MODELO CUADRÁTICO DEL ANÁLISIS DE REGRESIÓN DEL COLOR DE LAS BEBIDAS FORMULADAS.	119
TABLA 19	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL MODELO CUADRÁTICO DEL ANÁLISIS DE REGRESIÓN DEL SABOR DE LAS BEBIDAS FORMULADAS.	120
TABLA 20	ANÁLISIS DE VARIANZA DEL MODELO CUADRÁTICO DEL ANÁLISIS DE REGRESIÓN DE ACEPTABILIDAD DE LAS BEBIDAS FORMULADAS.....	121
TABLA 21	NÚMERO DE MICROORGANISMO AEROBIOS (UFC/ML) DE LA BEBIDA FUNCIONAL ANTIOXIDANTE ÓPTIMA A DIFERENTES TEMPERATURAS Y TIEMPOS DE ALMACENAMIENTO.	144
TABLA 22	NÚMERO DE MOHOS Y LEVADURAS (UFC/ML) DE LA BEBIDA FUNCIONAL ANTIOXIDANTE ÓPTIMA A DIFERENTES TEMPERATURAS Y TIEMPOS DE ALMACENAMIENTO.	144

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. TENDENCIA DE LOS ALIMENTOS FUNCIONALES	21
FIGURA 2. RELACIÓN DE LA SALUD Y LA DIETA.....	27
FIGURA 3. PRINCIPALES COMPUESTOS BIOACTIVOS EN FRUTAS.....	34
FIGURA 4. ESTRUCTURA BÁSICA DE LOS FLAVONOIDES Y SISTEMA DE NUMERACIÓN.....	35
FIGURA 5. GRUPOS TERMINALES EN MOLÉCULAS DE CAROTENOIDES	39
FIGURA 6. CONFIGURACIONES DE LA ZEAXANTINA	40
FIGURA 7. FRUTO DEL MANGO	43
FIGURA 8. FRUTA DEL NONI.....	48
FIGURA 9. PRINCIPALES COMPUESTOS BIOACTIVOS PRESENTES EN PULPA DE NONI	52
FIGURA 10. FRUTO DEL AGUAYMANTO	53
FIGURA 11. MÉTODOS HAT PARA MEDIR CAPACIDAD ANTIOXIDANTE.....	61
FIGURA 12. CARÁCTER SECUENCIAL DE LA RSM.....	65
FIGURA 13. SUPERFICIE DE RESPUESTA CUADRÁTICA Y GRÁFICAS DE CONTORNO.....	67
FIGURA 14. DISEÑO SIMPLEX LATTICE A (3,2) PARA EXPERIMENTOS DE MEZCLAS.....	69
FIGURA 15. DISEÑO SIMPLEX-CENTROIDE N = 3 PARA EXPERIMENTOS DE MEZCLAS.....	70
FIGURA 16. MECANISMO DE DEGRADACIÓN OXIDATIVA DEL ÁCIDO ASCÓRBICO.....	72
FIGURA 17. MECANISMO DE DEGRADACIÓN ANAERÓBICA DE ÁCIDO ASCÓRBICO.....	73
FIGURA 18. ETAPAS EXPERIMENTALES DE LA INVESTIGACIÓN	88
FIGURA 19. PROTOCOLO ESQUEMÁTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO EMPLEANDO UNA TIRA REACTIVA MQUANT (MERCK) Y ANÁLISIS DE IMAGEN CON COLOR GRAB.....	93
FIGURA 20. DIAGRAMA DE FLUJO DE OBTENCIÓN DE LAS PULPAS DE MANGO, NONI Y AGUAYMANTO.....	99

FIGURA 21. DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESAMIENTO DE BEBIDAS FUNCIONALES ANTIOXIDANTES EN BASE PULPA DE MANGO, NONI Y AGUAYMANTO.....	102
FIGURA 22. CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO DE LAS PULPAS DE MANGO, AGUAYMANTO Y NONI. LOS VALORES REPRESENTAN EL PROMEDIO \pm DESVIACIÓN ESTÁNDAR (N=3).	109
FIGURA 23. CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES DE LAS PULPAS DE MANGO, AGUAYMANTO Y NONI. LOS VALORES REPRESENTAN EL PROMEDIO \pm DESVIACIÓN ESTÁNDAR (N=3).....	110
FIGURA 24. CONTENIDO DE CAROTENOIDES TOTALES DE LAS PULPAS DE MANGO Y AGUAYMANTO. LOS VALORES REPRESENTAN EL PROMEDIO \pm DESVIACIÓN ESTÁNDAR (N=3).....	112
FIGURA 25. CONTENIDO DE CAROTENOIDES INDIVIDUALES DE LAS PULPAS DE MANGO Y AGUAYMANTO. LOS VALORES REPRESENTAN EL PROMEDIO \pm DESVIACIÓN ESTÁNDAR (N=3).....	113
FIGURA 26. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS PULPAS DE MANGO, AGUAYMANTO Y NONI MEDIDO MEDIANTE EL MÉTODO DEL DPPH, EXPRESADO EN EQUIVALENTES DE TROLOX (A) Y EN EQUIVALENTES DE ÁCIDO ASCÓRBICO (B). LOS VALORES REPRESENTAN EL PROMEDIO \pm DESVIACIÓN ESTÁNDAR (N=3).	115
FIGURA 27. SUPERFICIE DE RESPUESTA Y DE CONTORNO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS BEBIDAS FORMULADAS SEGÚN UN DISEÑO D-OPTIMA. LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE ESTA EXPRESADO EN PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE DPPH. LOS VALORES REPRESENTAN EL PROMEDIO (N=3).....	124

FIGURA 28. SUPERFICIE DE RESPUESTA Y DE CONTORNO DEL ATRIBUTO SENSORIAL COLOR DE LAS BEBIDAS FORMULADAS SEGÚN UN DISEÑO D-OPTIMA. EL COLOR SE MIDIÓ MEDIANTE UN PANEL SEMI-ENTRENADO CONSTITUIDO POR 30 PANELISTAS. LOS VALORES REPRESENTAN EL VALOR PROMEDIO DE LA EVALUACIÓN SENSORIAL.	125
FIGURA 29. SUPERFICIE DE RESPUESTA Y DE CONTORNO DEL ATRIBUTO SENSORIAL SABOR DE LAS BEBIDAS FORMULADAS SEGÚN UN DISEÑO D-OPTIMA. EL SABOR SE MIDIÓ MEDIANTE UN PANEL SEMI-ENTRENADO CONSTITUIDO POR 30 PANELISTAS. LOS VALORES REPRESENTAN EL VALOR PROMEDIO DE LA EVALUACIÓN SENSORIAL.	126
FIGURA 30. SUPERFICIE DE RESPUESTA Y DE CONTORNO DEL ATRIBUTO SENSORIAL ACEPTABILIDAD DE LAS BEBIDAS FORMULADAS SEGÚN UN DISEÑO D-OPTIMA. LA ACEPTABILIDAD SE MIDIÓ MEDIANTE UN PANEL SEMI-ENTRENADO CONSTITUIDO POR 30 PANELISTAS. LOS VALORES REPRESENTAN EL VALOR PROMEDIO DE LA EVALUACIÓN SENSORIAL.....	127
FIGURA 31. LÍNEAS CONTORNO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE OBTENIDO EN LA OPTIMIZACIÓN DE LA BEBIDA FUNCIONAL ANTIOXIDANTE.	129
FIGURA 32. LÍNEAS CONTORNO DE LA ACEPTABILIDAD OBTENIDO EN LA OPTIMIZACIÓN DE LA BEBIDA FUNCIONAL ANTIOXIDANTE.	130
FIGURA 33. SUPERPOSICIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y ACEPTABILIDAD PARA LA DETERMINACIÓN DE LA FORMULACIÓN ÓPTIMA.	131
FIGURA 34. CONTENIDO RELATIVO DE CAROTENOIDES TOTALES DE LA BEBIDA FUNCIONAL ANTIOXIDANTE DURANTE EL ALMACENAMIENTO A 25 °C (A), 35 °C (B) Y 45 °C (C). LOS VALORES A DIFERENTES TIEMPOS (C) SE RELATIVIZARON RESPECTO AL	

VALOR INICIAL (C_0). LOS VALORES MOSTRADOS SON EL PROMEDIO \pm SD (N=3). LA PRUEBA DE DUNNETT FUE EMPLEADA PARA COMPARACIÓN CON EL CONTROL DE TIEMPO 0 DE ALMACENAMIENTO (* P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001, **** P < 0,0001). 133

FIGURA 35. CONTENIDO RELATIVO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE LA BEBIDA FUNCIONAL ANTIOXIDANTE DURANTE EL ALMACENAMIENTO A 25 °C (A), 35 °C (B) Y 45 °C (C). LOS VALORES A DIFERENTES TIEMPOS (C) SE RELATIVIZARON RESPECTO AL VALOR INICIAL (C_0). LOS VALORES MOSTRADOS SON EL PROMEDIO \pm SD (N=3). LA PRUEBA DE DUNNETT FUE EMPLEADA PARA COMPARACIÓN CON EL CONTROL DE TIEMPO 0 DE ALMACENAMIENTO (* P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001)..... 134

FIGURA 36. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE RELATIVO DE LA BEBIDA FUNCIONAL ANTIOXIDANTE DURANTE EL ALMACENAMIENTO A 25 °C (A), 35 °C (B) Y 45 °C (C). EL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE DPPH A DIFERENTES TIEMPOS (C) SE RELATIVIZARON RESPECTO AL VALOR INICIAL (C_0). LOS VALORES MOSTRADOS SON EL PROMEDIO \pm SD (N=3). LA PRUEBA DE DUNNETT FUE EMPLEADA PARA COMPARACIÓN CON EL CONTROL DE TIEMPO 0 DE ALMACENAMIENTO (* P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001, **** P < 0,0001)..... 135

FIGURA 37. VARIACIÓN DEL PARÁMETRO DE COLOR CIELAB L DE LA BEBIDA FUNCIONAL ANTIOXIDANTE DURANTE EL ALMACENAMIENTO A 25 °C (A), 35 °C (B) Y 45 °C (C). LOS VALORES MOSTRADOS SON EL PROMEDIO \pm SD (N=3). LA PRUEBA DE

DUNNETT FUE EMPLEADA PARA COMPARACIÓN CON EL CONTROL DE TIEMPO 0 DE ALMACENAMIENTO (* P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001, **** P < 0,0001)... 137

FIGURA 38. VARIACIÓN DEL PARÁMETRO DE COLOR CIELAB A* DE LA BEBIDA FUNCIONAL ANTIOXIDANTE DURANTE EL ALMACENAMIENTO A 25 °C (A), 35 °C (B) Y 45 °C (C). LOS VALORES MOSTRADOS SON EL PROMEDIO ± SD (N=3). LA PRUEBA DE DUNNETT FUE EMPLEADA PARA COMPARACIÓN CON EL CONTROL DE TIEMPO 0 DE ALMACENAMIENTO (** P < 0,01, **** P < 0,0001). 138

FIGURA 39. VARIACIÓN DEL PARÁMETRO DE COLOR CIELAB B* DE LA BEBIDA FUNCIONAL ANTIOXIDANTE DURANTE EL ALMACENAMIENTO A 25 °C (A), 35 °C (B) Y 45 °C (C). LOS VALORES MOSTRADOS SON EL PROMEDIO ± SD (N=3). LA PRUEBA DE DUNNETT FUE EMPLEADA PARA COMPARACIÓN CON EL CONTROL DE TIEMPO 0 DE ALMACENAMIENTO (* P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001). 140

FIGURA 40. VARIACIÓN DEL PARÁMETRO DE COLOR CIELAB CROMA C DE LA BEBIDA FUNCIONAL ANTIOXIDANTE DURANTE EL ALMACENAMIENTO A 25 °C (A), 35 °C (B) Y 45 °C (C). LOS VALORES MOSTRADOS SON EL PROMEDIO ± SD (N=3). LA PRUEBA DE DUNNETT FUE EMPLEADA PARA COMPARACIÓN CON EL CONTROL DE TIEMPO 0 DE ALMACENAMIENTO (* P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001)..... 141

FIGURA 41. VARIACIÓN DEL PARÁMETRO DE COLOR CIELAB H° DE LA BEBIDA FUNCIONAL ANTIOXIDANTE DURANTE EL ALMACENAMIENTO A 25 °C (A), 35 °C (B) Y 45 °C (C). LOS VALORES MOSTRADOS SON EL PROMEDIO ± SD (N=3). LA PRUEBA DE DUNNETT FUE EMPLEADA PARA COMPARACIÓN CON EL CONTROL DE TIEMPO 0 DE ALMACENAMIENTO (**** P < 0,0001). 142

FIGURA 42. MECANISMO DE REACCIÓN DEL DPPH CON ANTIOXIDANTES. EL PROCESO SE
TRADUCE EN CAMBIO DE COLOR DEL RADICAL QUE PUEDE SER MONITOREADO POR
ESPECTROFOTOMETRÍA. 155

DEDICATORIA

**A DIOS MI GUÍA QUIEN PERMITE
CULMINAR ESTE ANHELO**

**EN MEMORIA A MI MADRE
SAHARA ANDREA
POR ILUMINARME DESDE EL
CIELO Y GUIARME EN EL
CAMINO.**

**A MIGUEL
POR SU APOYO Y COMPRENSIÓN**

**A MIS HIJOS
LUIS MIGUEL Y JOSÉ MIGUEL
QUE SON EL MOTIVO DE SEGUIR
ADELANTE**

AGRADECIMIENTO

Mi agradecimiento eterno a Dios por haber permitido culminar con éxito esta gran tarea, por ser fortaleza en momentos de debilidad, por haberme dado una vida llena de aprendizajes y sobre todo mucha felicidad.

A mi madre Sahara Andrea quien siempre fue mi apoyo constante.

A mi familia por su apoyo incondicional de siempre.

A mi asesor Dr. Luis Alberto Condezo Hoyos por el apoyo constante y confianza en el trabajo, por su aporte en el desarrollo de la tesis doctoral.

A los docentes y colegas del Doctorado en Ciencia de los Alimentos, con quienes compartimos conocimientos y muchas experiencias en las aulas.

A la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión por las instalaciones de la Escuela de Ingeniería en Industrias Alimentarias.

A la Universidad Nacional de Barranca por las instalaciones de la Escuela de Ingeniería en Industrias Alimentarias.

Finalmente, a aquellas personas que de manera directa e indirecta hicieron posible la culminación de este trabajo de investigación.

RESUMEN

El mercado de alimentos funcionales es un sector emergente en la industria alimentaria debido a que los consumidores demandan alimentos que adicionalmente a su aporte nutritivo proporcionen efectos benéficos; es decir, alimentos que contengan compuestos bioactivos. Donde el objetivo de la tesis doctoral fue diseñar y optimizar una bebida funcional antioxidante (BFA) mediante la metodología de superficie de respuesta empleando frutas de pulpa de mango (*Mangifera indica L.*) (PM), aguaymanto (*Physalis peruviana L.*) (PA) y noni (*Morinda citrifolia*) (PN). La BFA se optimizó maximizando la capacidad antioxidante frente al radical libre 2,2-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) y la aceptabilidad con un diseño D-óptima (restricción del 10% para PN). Los resultados obtenidos para la BFA, en cuanto a las frutas (PM, PA, PN) se caracterizaron en relación a su contenido de compuestos fenólicos totales y se obtuvieron (PM=1,64±0,05, PA=0,34±0,02 y PN=1,77±0,08 mg ácido gálico/g), carotenoides totales (PM=3,2±0,02 y PA=1,18 ± 0,01 mg /100 g) y ácido ascórbico (PM=365,40±11,63, PA=382,28±23,56 y PN=1668,80±13,96 mg/100 mL). La BFA óptima se alcanzó con PM=93%, PA=0% y PN=7% p/p), la misma que inhibió el 25,58 % de DPPH y una aceptabilidad sensorial de 7,38. El estudio de estabilidad de la BFA óptima en condiciones aceleradas de almacenamiento (25 °C, 35 °C y 45 °C) durante 30 días demostró que: a) el contenido de carotenoides totales y la capacidad antioxidante disminuyen b) el contenido de compuestos fenólicos totales aumenta, c) el número de microorganismos (aerobios < 10 ufc/mL y mohos-levaduras < 10 ufc/mL) y d) los valores de color CIELab *L*, *a** y *b** aumentan, en tanto *C* y *h*^o disminuyen. Así mismo se llega a la conclusión que la BFA inhibe 25,58 % del radical libre 2,2-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) lo cual sería considerada

como bebida funcional y una aceptabilidad sensorial de mayor preferencia con PM=93%, PA=0% y PN=7% p/p y en función a la estabilidad se tiene una BFA bastante estable a las condiciones de estudio.

Palabras clave: Bebida Funcional, Antioxidantes, Aguaymanto, Noni, Mango, Metodología de Superficie de Respuesta.

ABSTRACT

The market of functional food is an emergent sector in the food industry because the consumers demand foods that additionally to the nutritional properties to provide health benefit, i.e. those foods that contain bioactive compounds. The aim of the doctoral thesis was design and optimize a novel functional drinks antioxidant (FDA) based on mango (*Mangifera indica L.*) (MP), gooseberry (*Physalis peruviana L.*) (AP) and noni (*Morinda citrifolia*) (NP) pulp. The FDA was optimized through maximizing of their antioxidant capacity against 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) and overall acceptability using the response Surface methodology with a D-optima design ($NP \leq 10\%$). MP, AP and NP were characterized for their content of total phenolic (MP=1.64±0.05, AP=0.34±0.02 y NP=1.77±0.08 mg GAE/g), total carotenoids (MP=3.20±0.02 y AP=1.18±0.01 mg/100 g) and ascorbic acid (MP=365.40±11.63, AP=382.28±23.56 y NP=1668.80±13.96 mg/100 mL). Optimal FDA was reach for MP=93%, AP=0% and NP=7% w/w), which inhibited 25.58 % of DPPH and sensorial overall acceptability of 7.38. The BF storage stability at accelerated conditions (25 °, 35 ° and 45 °C) for 30 days showed that: a) content of total carotenoids and antioxidant capacity was reduced, b) content of total phenolic was increased, c) microorganism number

(aerobio < 10 ufc/mL and fungal-yeast < 10 ufc/mL) was not increased and d) Color CIELab values L , a^* y b^* was increased, whereas C y h° was decreased.

It is concluded that BFA inhibits 25.58% of the free radical 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH), which would be considered a functional drink and a more preferred sensory

acceptability with MW = 93%, PA = 0% and PN = 7% p / p and depending on the stability we have a BFA quite stable to the study conditions.

Keywords: Functional Drink, Antioxidant, Mango, Gooseberry, Noni, Response Surface Methodology.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se verifica modificaciones en el comportamiento alimentario del consumidor con tendencias a establecer patrones de alimentos saludables, por lo tanto los consumidores buscan alimentos que tengan un valor agregado alimenticio, en ese contexto se realizó la presente tesis doctoral, con el aprovechamiento de frutas que presenten características aptas para el diseño de una bebida funcional antioxidante. Existen evidencias que han demostrado de que las personas que no consumen frutas y verduras o consumen poco tienen mayor riesgo a contraer algunas enfermedades crónicas, como cáncer y enfermedades cardiovasculares, especialmente en los países industrializados (De la Rosa, Alvarez-Parrilla, & González-Aguilar, 2009). Las preferencias de los consumidores es obtener dietas óptimas para mantener una buena salud, la desconfianza hacia alimentos "procesados" y el aumento del mercado de alimentos "naturales" ha creado la "revolución" tecnocientífica de "alimentos funcionales" en la que existe mayor tendencia al consumo, la base de estos compuestos son las frutas , eminentemente, de origen vegetal o fitoquímica, (Chasquibol et al., 2003). Las frutas contienen abundantes componentes bioactivos de bajo costo, y de mayor aceptabilidad de productos vegetales como resultado de razones religiosas, sociales o morales que impiden que muchas personas consuman derivados de productos animales (Bidlack Wayne R., Omaye Stanley T, Meskin Mark S, & Topham Debra K. W. , 2000). Los compuestos bioactivos presentes en frutas han demostrado actividad antimicrobiana, anticancerígena, antiinflamatoria, inmunoestimulante y actividad antioxidante.(Skinner & Hunter, 2013).

Estas tendencias alimentarias generan el interés por investigar sobre los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante presente en frutas como mango, aguaymanto y noni, con el diseño de una bebida funcional con capacidad antioxidante, de sabor aceptable y de fácil industrialización para el aprovechamiento de estas materias primas. El objetivo de la presente tesis doctoral es lo siguiente:

Diseñar y optimizar una bebida funcional mixta con capacidad antioxidante en base a pulpa de mango, noni y aguaymanto.

Determinar los compuestos antioxidantes y la capacidad antioxidante de las pulpas de mango, noni y aguaymanto.

Optimizar la proporción de las pulpas de mango, noni, aguaymanto para obtener una bebida funcional maximizando la capacidad antioxidante y sus atributos sensoriales.

Evaluar la estabilidad de la bebida funcional antioxidante óptima en condiciones aceleradas de almacenamiento.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción del problema

El bajo consumo de frutas y verduras que contienen compuestos antioxidante naturales, y que son ricos en vitaminas y minerales conlleva a problemas de salud. A ello se suma que a pesar de que el Perú es un país mega biodiverso en cuanto a recursos alimentarios, es mínimo el conocimiento referente al potencial antioxidante de las frutas producidos en la provincia de Lima -Barranca y menos aún es escaso el conocimiento de efectos beneficiosos del consumo de frutas en nuestro país.

Según (INEI, 2009) el promedio de consumo semanal de frutas y verduras reportado es de 875 gramos, cantidad que solo representa un tercio de la recomendación internacional. Asimismo, el consumo de fibra dietética es de 16 gramos, que cubre solo el 45% de la recomendación diaria.

En la actualidad, la generación de conocimiento referente al potencial benéfico de frutas producidas en la provincia de Lima -Barranca, es mínima, más aún sobre el desarrollo de alguna bebida funcional mixta que posea atributos aceptables los cuales permitan compensar la deficiencia de la ingesta de frutas referida.

Según el (INEI, 2009), en el Perú, el plátano es la fruta de mayor consumo promedio per cápita anual con 26 kilos 400 gramos al año o 2 kilos 200 gramos al mes, seguido de la naranja y manzana entre otras. Así mismo se tiene a la bebida gaseosa como uno de las principales bebidas no alcohólicas que consume un peruano/a con 27 litros 300 mililitros al año o 2 litros 300 mililitros de consumo promedio per cápita al mes, seguido del agua mineral y de mesa con 4 litros 900 mililitros al año, néctar 2 litros 400 mililitros. Y refrescos fluidos 2 litros 800 mililitros. El consumo de bebidas a base de frutas como néctares y jugos es un mercado importante en el Perú, y no se aprovecha en su totalidad a las frutas en estos productos como bebidas mixtas que bien tendrían propiedades antioxidantes, dado que no existe en el mercado local bebidas naturales que contenga estas características, y los que actualmente se comercializan en su mayoría son bebidas a base de colorantes artificiales provocando un riesgo para la salud por el consumo excesivo.

En la actualidad no se cuenta con una bebida saludable a base de pulpa de frutas naturales que logre posicionarse en el gusto del consumidor; por tanto, es necesario diseñar bebidas mixtas a base de recursos alimentarios que aporten un gran potencial de propiedades antioxidantes y así dar un valor agregado a estos productos incentivando la producción agrícola, el consumo y aprovechamiento de estas materias primas.

1.2. Formulación del problema

- Problema general

¿Cómo diseñar una bebida funcional con capacidad antioxidante en base a pulpa de mango, noni y aguaymanto?

- Problemas específicos

¿Cuáles son los compuestos antioxidantes y la capacidad antioxidante de las pulpas de mango, noni y aguaymanto?

¿Cómo optimizar la proporción de las pulpas de mango, noni aguaymanto para obtener una bebida funcional maximizando la capacidad antioxidante y sus atributos sensoriales?

¿Cómo evaluar la estabilidad de la bebida funcional antioxidante óptima en condiciones aceleradas de almacenamiento?

1.3. Justificación e importancia de la investigación

El Perú cuenta con una gran riqueza de frutas tropicales con un gran potencial nutritivo y terapéutico los cuales hasta el momento han sido poco estudiados. Los productos vegetales poseen una variedad de compuestos químicos que actúan como agentes antioxidantes, inhibiendo la formación y el daño producido por radicales libres, que no solo producen rancidez y pérdidas de alimentos en su almacenamiento, sino que están asociados con enfermedades crónicas como el cáncer, el mal de Alzheimer, enfermedades cardiovasculares y están fuertemente ligados al proceso de envejecimiento.

Las frutas frescas presentan una capacidad antioxidante determinada y es necesario identificarlas y evaluar su concentración para incentivar la producción de estos vegetales.

El Perú produce una variedad de frutas con alta capacidad antioxidante, por tanto es necesario estudios de investigación que identifiquen frutas de mayor capacidad antioxidante para promover su producción e incentivar el consumo en alimentos que estén al alcance de la mayor parte de la población.

Las bebidas funcionales han tomado mucha importancia, actualmente las personas buscan mejorar su salud de una forma rápida y el consumo de productos que contribuyan a mejorarla es demandado en gran medida, el consumo de frutas demuestran mejorar el estado de salud de las personas, así como también disminuir el riesgo de padecer enfermedades, y potencializar mecanismos importantes en el organismo como son los antioxidantes, que retienen el envejecimiento de las células evitando de esta forma daños irreversibles. Asimismo, surge la necesidad de desarrollar diversas tecnologías que ayuden a la industria alimentaria a innovar nuevos productos que ayuden a mejorar la salud.

El mercado de bebidas funcionales continúa creciendo a medida que las demandas de los consumidores de bebidas carbonatadas tradicionales disminuyen, en línea con estilos de vida cambiantes de salud y bienestar del consumidor. Esta industria ofrece enormes oportunidades para las empresas que desarrollan bebidas orientadas a consumo masivo, donde los atributos intrínsecos y extrínsecos están diseñados para cumplir de cerca las expectativas del consumidor, ofreciendo beneficios como parte de un estilo de vida saludable.

Un enfoque orientado al mercado para el desarrollo de nuevas bebidas funcionales incorpora la voz de la información del consumidor en las primeras etapas del proceso del desarrollo de nuevos productos con el fin de aumentar la probabilidad de aceptación del consumidor. Esto es particularmente muy importante en sector de bebidas donde los consumidores se enfrentan a nuevas decisiones de elección, frente a la innovación, y aparición de marcas de una manera muy agresiva. (Yu & Bogue, 2013)

1.4. Limitaciones de la investigación

Dentro de las limitaciones se tienen la recolección y el procesamiento de datos prácticos ya que impide muchas veces realizar investigación de validez universal. Así mismo las condiciones del laboratorio al trabajar con equipos de laboratorio para toma de datos deben regularse para mantener y garantizar la conservación de patrones y estabilidad en las calibraciones de los equipos, para que los datos que se tomen expresen de manera fiable y permita conocer mejor las condiciones reales del proceso, y así obtener resultados más precisos.

1.5. Objetivos

1.5.1 Objetivo General

Diseñar y optimizar una bebida funcional con capacidad antioxidante en base a pulpa de mango, noni y aguaymanto, mediante la metodología de superficie de respuesta.

1.5.2 Objetivos específicos

Determinar los compuestos antioxidantes y la capacidad antioxidante de las pulpas de mango, noni y aguaymanto.

Optimizar la proporción de las pulpas de mango, noni y aguaymanto para obtener una bebida funcional maximizando la capacidad antioxidante y sus atributos sensoriales.

Evaluar la estabilidad de la bebida funcional antioxidante óptima en condiciones aceleradas de almacenamiento.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Según (Salamanca, Osorio, & Montoya, 2010) “*Elaboracion de una bebida funcional de alto valor biologico a base de borojo*”(*Borojoa patinoi Cuatrec*), reportaron la evaluación y optimización de un cremolácteo funcional y de alto valor biológico a partir de pulpa de Borojó usando miel como edulcorante y soportados en una base láctea de yogurt. Evaluaron 16 formulaciones distintas, a partir de las valoraciones sensoriales y análisis fisicoquímicos encontraron la formulación óptima con 12.5% de pulpa, 75.0 de base láctea de yogurt y 12.5% p/p de miel. Las propiedades sensoriales presentan diferencias importantes, que contribuyen al proceso de la optimización. La estabilidad del producto a 8°C es de 30 días. La mezcla no revela flora microbiana importante y los niveles observados hacen del producto un material seguro.

Según Repo de Carrasco, R., & Encina Zelada, (2008) “*Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas*”, concluyeron que el estado de madurez influye en forma directamente proporcional al contenido de compuestos bioactivos en el aguaymanto, los que a su vez generan una mayor capacidad antioxidante en el fruto mientras presenta mayor madurez.

Según (Gironés-Vilaplana et al., 2015), “*Beverages of lemon juice and exotic noni and papaya with potential for anticholinergic effects*”, reportaron que el jugo de bebidas de Limón (*Citrus limon* (L.) enriquecidas con noni (*Morinda citrifolia* L.) (LN) y papaya (*Carica papaya* L.) (LP) se caracterizaron por HPLC-DAD-ESI / MSn, la capacidad antioxidante fue evaluado por (DPPH), superóxido (O₂), radicales hidroxilo (OH) y ácido hipocloroso (HOCl).

Según (Thirukkumar, Vennila, & Kanchana, 2018) “*Physico-chemical characteristics of noni fruit juice blended squashes during storage*”, se realizó el estudio del desarrollo de una bebida de jugo de noni mezclada con diferentes zumo de frutas para encontrar la mejor combinación con el noni, realizándose estudios de aceptabilidad sensorial y estabilidad durante el almacenamiento. Se utilizó jugo de noni y se mezcló con zumo de fruta de 0 a 25 por ciento de amla (*Emblica officinalis*), jugo de noni con sathukudi (*Citrus limetta*) y jugo de noni con jugo de uva completamente madura (*Vitis vinefera*) para encontrar la mejor mezcla. El noni estandarizado y mezclado con el jugo de frutas antes mencionado (80:20), se envasó en botellas de PET y se almacenó a temperaturas de refrigeración durante seis meses. Los resultados mostraron una tendencia creciente en la acidez, la reducción el azúcar y el pardeamiento no enzimático, la tendencia decreciente en el pH, el azúcar total, el ácido ascórbico, el tanino, actividad antioxidante total y valores de color, fueron predominantemente bajos condiciones de refrigeración durante el almacenamiento.

Según (Saci, Meziat, & Louaileche, 2015) “*Effect of Storage Time and Temperature on the Health-Promoting Substances and Antioxidant Activity of Two Commercial Fruit Based-Beverages*” reportaron que los cambios de las sustancias promotoras de la salud (fenólicos y

flavonoides) y la actividad antioxidante de bebidas de zanahoria y mango durante el almacenamiento a 25 y 35 ° C durante 30, 60 y 90 días. El contenido fenólico total se determinó usando el método Folin-Ciocalteu. La actividad antioxidante se basó en la evaluación de la eliminación de radicales libres usando el radical DPPH y el poder reductor férrico (FRP). Al final del almacenamiento, las bebidas analizadas exhibieron una pérdida significativa de fitoquímicos y actividad antirradical. Asimismo reportan una correlación extremadamente significativa ($p < 0.001$) entre contenidos fenólicos y flavonoides, y la actividad antioxidante (FRSA y FRP) de bebidas de zanahoria y mango.

Según (Seeram et al., 2008), “ Comparison of Antioxidant Potency of Commonly Consumed Polyphenol-Rich Beverages in the United States”, reportaron la investigación de cuatro pruebas de capacidad antioxidante (Trolox (TEAC), capacidad de absorbanza de oxígeno radical (ORAC), capacidad de eliminación de radicales libres por 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), y poder antioxidante reductor férrico (FRAP)]; y una prueba de funcionalidad antioxidante, es decir, inhibición de la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) por peróxidos y métodos de malondialdehído; asimismo reporto la evaluación del contenido de polifenoles totales [equivalentes de ácido gálico (GAE)] en bebidas comercializadas en el mercado. Las bebidas incluyeron varias marcas diferentes: jugo de manzana jugo, jugo de açai, jugo de cereza negra, jugo de arándano, jugo de uva Concord, jugo de naranja, vinos tintos, bebidas de té negro, té verde, té blanco, y bebida de jugo de granada (PJ) *Punica granatum* disponible en el mercado de EE. UU. Reportando que PJ tenía el mayor índice de capacidad antioxidante hasta un valor del 20% mayor que cualquiera de las otras bebidas analizadas.

Según (Castañeda, Llica, & Vasquez, 2008) “*Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas*”, reportaron la evaluación de la capacidad antioxidante de veintinueve extractos de plantas medicinales, indicando que los diferentes extractos de las plantas, presentaron una buena actividad antioxidante, siendo el extracto etanólico de canela, el que presentó una mayor capacidad de captación de radicales libres, seguido por el extracto metanólico de lagarto caspi, camu camu, extracto acuoso de muña y extracto metanólico de hiporuro .

Según (Muñoz Jáuregui, Ramos-Escudero, Alvarado-Ortiz Ureta, & Castañeda Castañeda, 2007), estudiaron la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos en la parte comestible de aguaymanto, carambola, tomate de árbol, yacón, tumbo costeño, tumbo serrano, noni, camu-camu y guinda, llegando a resultados obtenidos para la actividad antioxidante mediante el método DPPH; donde la eficiencia de concentración 50% indica que el camu-camu y el tumbo serrano presentan mayor capacidad antioxidante, seguidos por la guinda y el noni.

(Kuskoski, Asuero, Troncoso, Mancini-Filho, & Fett, 2005), evaluaron diferentes métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en pulpa de frutos, siendo el radical ABTS•+ uno de los más rápidos, originando resultados reproducibles y coherentes. Además, el ABTS presenta importantes ventajas; mostrando varios máximos de absorción y una buena solubilidad.

Según (Martínez-Navarrete, del Mar Camacho Vidal, & José Martínez Lahuerta, 2008) en su trabajo de investigación “Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud”,

indican que los alimentos de origen vegetal (frutas, hortalizas, cereales y alimentos derivados de ellos) son productos de gran interés, ya que, además de aportar macronutrientes y micronutrientes (hidratos de carbono, minerales, ácidos orgánicos, vitaminas y fibra), contienen una serie de sustancias que, aunque no tienen una función nutricional clásicamente definida, o no se consideran esenciales para la salud humana, pueden tener un impacto significativo en el curso de alguna enfermedad y ser indispensables a largo plazo para nuestra salud. Estas sustancias bioactivas o metabolitos secundarios de origen vegetal se denominan también fitoquímicos o fitonutrientes.

(Villanueva-Tiburcio, Condezo-Hoyos, & Asquieri, 2010) polifenoles totales y actividad antioxidante, en la cáscara de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) *McVaugh*)” reportaron la evaluación del contenido de antocianinas, ácido ascórbico, y polifenoles totales, en cáscara fresca y seca de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) *McVaugh*) en diferentes estados de madurez; para la actividad antioxidante en cáscara seca, utilizaron diferentes tipos de radicales (DPPH, ABTS + y Peroxilo) y correlacionaron el valor de ácido ascórbico y polifenoles totales con la actividad antioxidante. La extracción fue realizada en medio acuoso, y los resultados de las evaluaciones de cada experimento fueron analizados por un diseño completamente al azar (DCA), según la prueba de t-student ($p < 0,05$). El extracto de la cáscara de la muestra madura fresca mostró las concentraciones más elevadas de ácido ascórbico y antocianinas en relación al pintón y verde, con 21,95 mg.g⁻¹ cáscara, y 46,42 mg.L⁻¹ de cianidin-3-glucósido, respectivamente, mientras que el extracto de la cáscara seca del pintón mostró el mayor valor de ácido ascórbico y polifenoles totales con 53,49 mg.g⁻¹ muestra y 7,70 mg de Ac. Gálico/g muestra. La mayor actividad antioxidante, fue en los

extractos de la cáscara seca de muestra pintón, con IC₅₀ = 46,20; 20,25 y 8,30 µg.mL⁻¹ frente a los radicales DPPH, ABTS + y Peroxilo respectivamente.

Según (Deng, Cheng, & Yang, 2011), en su estudio “Total phenolics, ascorbic acid, and antioxidant capacity of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder as affected by illumination during storage”. Determinaron que durante el almacenamiento a 24 °C. Después de 2 semanas de almacenamiento, el jugo de noni iluminado perdió 32% de fenoles totales, 89% de ácido ascórbico, y 46-65% de la capacidad-sobre antioxidante 8%, 22%, y 9-15% más de jugo no iluminado. Tanto iluminado y el jugo no iluminado perdieron el 97% de ácido ascórbico a las 4 semanas. La diferencia en las características antioxidantes entre el jugo iluminado y no iluminado se convirtió en insignificante a las 12 semanas. Después de 12 semanas, el polvo de noni iluminado perdió 21% de fenoles totales, 17% de ácido ascórbico, y 23-36% de la capacidad-sobre antioxidante 13%, 4%, y 7-19% más que el polvo no iluminado. Polvo. El noni almacenado en botellas oscuras retiene características antioxidantes significativamente mayor que en botellas claras.

Según (Arrazola P., Rojano, & Diaz D., 2013), “Capacidad antioxidante de cinco cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) y evaluación de su comportamiento en una matriz alimentaria” , realizaron el estudio de la capacidad antioxidante de los extractos de cinco cultivares de mango (Corazón, Paloma, Magdalena River, Canela y Jobo) mediante la determinación del contenido de β-caroteno, fenoles, ácido ascórbico y la capacidad captadora de radicales libres, 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH). Además, evaluó la capacidad

antioxidante de los cultivares en una matriz lipídica, en comparación con un antioxidante comercial butilhidroxianisol (BHA). El IC-50 de la capacidad captadora de radicales libres para variedad Jobo fue de 0,776 el mejor resultado aplicando modelo de regresión simple ($R^2=99,58$); esta variedad presentó mayor actividad antioxidante con concentración de extracto 70,35 mg mL⁻¹, resultado verificado con un contenido de fenol de 208.804 mg L⁻¹ de ácido gálico. La variedad 'Jobo' presentó la mayor concentración de ácido ascórbico con 9.730,07 mg kg⁻¹, mientras que la variedad Magdalena River mostró el más alto porcentaje de inhibición de decoloración de β -caroteno (46,53%). Con 'Jobo' se obtuvo el mejor comportamiento en la matriz alimentaria usando 1.000 mg kg⁻¹ de extracto logrando el mismo efecto del BHA por encima de la concentración permitida (175 mg kg⁻¹).

Según (Gunathilake, Rupasinghe, & Pitts, 2013) "Formulation and characterization of a bioactive-enriched fruit beverage designed for cardio-protection." Evaluaron el jugo de manzana, y arándano junto con extractos de agua de jengibre y aminoácidos seleccionados, vitaminas y minerales para ser utilizados para la formulación de una bebida funcional cardioprotectora. Trabajo con ultrasonidos para la preparación del extracto de jengibre rico en compuestos bioactivos. La ósmosis inversa se utilizó para lograr la concentración parcial de los bioactivos presentes en los zumos de frutas y potenciar la capacidad antioxidante. Se realizó una evaluación sensorial para encontrar la combinación de jugos de frutas y la cantidad de extracto de jengibre para ser incorporado en la formulación. Se evaluaron las propiedades fisicoquímicas y las propiedades antioxidantes in vitro en las bebidas, el contenido fenólico total, capacidad de reducción férrica del plasma (FRAP) e inhibición de inducida por Cu + 2 la oxidación de la lipoproteína de baja densidad (LDL) del extracto de

jengibre fue de 460 mg de equivalencia de ácido gálico (GAE) / L, 226 mg de equivalencia Trolox (TE) / L y 43%, respectivamente. Se encontró que hasta 2% (v / v) de extracto de jengibre puede ser incorporado en la formulación sin comprometer los atributos sensoriales. La mezcla de jugo de fruta seleccionada se usó para la formulación con aminoácidos, vitaminas y minerales. La evaluación sensorial reveló que la fortificación de los ingredientes funcionales seleccionados al 10% de ingesta diaria recomendada (IDR) no afecta la calidad sensoriales de la bebida. El contenido fenólico, valor de FRAP y% de inhibición de la oxidación de LDL del final la formulación de bebida funcional fue 1024 mg GAE / L, 3114 mg TE / L y 45%, respectivamente.

2.2. Marco Conceptual

2.2.1. Alimentos funcionales

2.2.1.1. Definición y origen

El término nace de la abreviatura del inglés “Food with Specific Health Uses” FOSHU (Saito, 2007). Los FOSHU, se caracterizan por tener efectos benéficos específicos en la salud del consumidor como resultado de sus ingredientes funcionales (prebióticos, probióticos, antioxidantes, ácidos grasos omega-3, ácido fólico, fitoesteroles, fitoestrógenos, entre otros), o porque se le han removido aquellos componentes del alimento que pueden tener un efecto perjudicial en la salud, como por ejemplo la remoción de componentes alérgenos, irritantes, hipercalóricos, entre otros (Yamada, Sato-Mito, Nagata, & Umegaki, 2008).

Según el Consejo Internacional de Información sobre Alimentos (IFIC), los alimentos funcionales son "alimentos que pueden proporcionar un beneficio para la salud más allá de la nutrición básica". El Instituto International Life Sciences Institute de América del Norte (ILSI) ha definido los alimentos funcionales como "alimentos que por la virtud de los componentes alimentarios fisiológicamente activos proporciona beneficios para la salud más allá de la nutrición básica". Health Canada define los alimentos funcionales como "similares en apariencia a un alimento convencional, consumido como parte de la dieta habitual, con beneficios fisiológicos demostrados, y / o para reducir el riesgo de enfermedad crónica más allá de las funciones nutricionales básicas. El Nutrition Business Journal ha definido al alimento funcional como "alimento enriquecido con ingredientes agregados o concentrados a niveles funcionales, que mejora la salud o el rendimiento".(Wildman, 2007)

Muchos consideran que se trata de un concepto aún en desarrollo y puede considerarse como productos intermedios entre los alimentos tradicionales y la medicina. Pero podrían definirse como "cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales que favorecen la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona". El International Life Science Institute (ILSI) establece que se puede considerar que un alimento es funcional si se logra demostrar satisfactoriamente que posee un efecto beneficioso sobre una o varias funciones específicas en el organismo, que mejora el estado de salud y de bienestar.

En Japón, el término "alimentos funcionales" (Keyno-sei-shokuhin, en japonés) como lo conocemos en occidente no es de uso común entre los consumidores. El término de

"alimentos funcionales" es solamente una interpretación dentro de la industria y su medio. Se considera a los alimentos funcionales, incluyendo los productos con denominación FOSHU, los alimentos con fines medicinales. Existe dos definiciones para alimentos saludables que son reconocidos por ley japonesa: FOSHU (alimentos para uso específico en salud) y FNFC (Food with nutrient functional claims) (alimentos con mensajes de nutrientes funcionales). Los alimentos o suplementos dietéticos que no pertenecen a estas categorías son denominados simplemente "alimentos" por ley, sin importar su forma, contenido o función. (Patel, Dufour, & Domigan, 2008)

En general se define que los alimentos deben tener tres funciones: la primera es "nutricional", esencial para la supervivencia del individuo. La segunda es una función "sensorial", esto es que su consumo produzca una sensación placentera a partir de su sabor, olor, textura, entre otras. La tercera es una función "fisiológica" con lo cual el alimento debe producir un efecto favorable en la nutrición, el biorritmo, el sistema nervioso, en la capacidad de defensa corporal, entre otras, de quien lo consume. En el concepto japonés, los alimentos funcionales deberían enmarcarse precisamente en esta última función (Yamada et al., 2008).

El término alimento funcional fue acuñado por científicos japoneses en el 1970 y fue presentado a la comunidad científica europea en el 1980's. Los alimentos funcionales no tuvieron mucha repercusión en los EE. UU. hasta la década de 1990, donde ganaron popularidad por primera vez en la costa oeste. Sin embargo, se reporta a la alimentación de los chinos que usaban estos alimentos como medicina durante miles de años.

El mercado global de alimentos funcionales continuar siendo un segmento dinámico y creciente en la industria alimentaria. Los alimentos funcionales son considerados alimentos del futuro para la prevención de enfermedades (Guo, 2009)

Según la legislación no existe un marco regulatorio sobre alimentos funcionales a nivel global. Muchos expertos coinciden en que la legislación alimentaria actual puede ser aplicable a dichos alimentos, pues se basa en seguridad de consumo y no permitir el engaño al consumidor, prohibiendo las aseveraciones “de propiedades medicinales”, que directa o implícitamente indican que el producto puede tratar, prevenir o curar una enfermedad. En el ámbito de Codex Alimentarius no se ha definido a los alimentos funcionales; pero se encuentran en vigencia desde 2004 con lineamientos aplicables a los beneficios de salud. Las normativas vigentes se aplican a todos los alimentos y profundizan sobre la comunicación de propiedades, distinguiendo información nutricional e higiénica. La información nutricional se refiere a la enumeración normalizada del contenido de nutrientes o al contenido comparativo o relativo de los mismos. Las declaraciones higiénicas se refieren a representaciones que establecen, sugieren o implican la relación existente entre un alimento o componente del alimento y la salud. La normativa indica que estas informaciones deben poseer un cuerpo de evidencia científica suficiente, proveer información veraz que permita al consumidor elecciones saludables (Olagnero, Genevois, Irei, Marcenado, & Bendersky, 2007).

Japón es el único país que ha formulado un proceso de aprobación regulatorio específico para alimentos funcionales. Estos alimentos son conocidos como Alimentos para

Uso Específico de Salud (FOSHU), elegibles para llevar un sello de aprobación del Ministerio de Salud y Bienestar de Japón (Hasler, 2002)

En los Estados Unidos, la categoría de alimentos funcionales no se reconoce legalmente. Independientemente de esto, muchas organizaciones han propuesto definiciones para esta área nueva y emergente de las ciencias de la alimentación y la nutrición.

2.2.1.2. Tendencia de los alimentos funcionales

Es así como las tendencias han ido evolucionando en lo que significa nuestra alimentación y el desarrollo de los alimentos, desde el concepto más básico de saciar el hambre, hasta hoy día, donde los requerimientos de alimentación y la conservación de la salud están muy estrechamente relacionados. Este es el nicho actual de los Alimentos Funcionales (Valenzuela, Valenzuela, Sanhueza, & Morales, 2014). En la Figura 1 se muestra el desarrollo de esta tendencia (Patel et al., 2008).

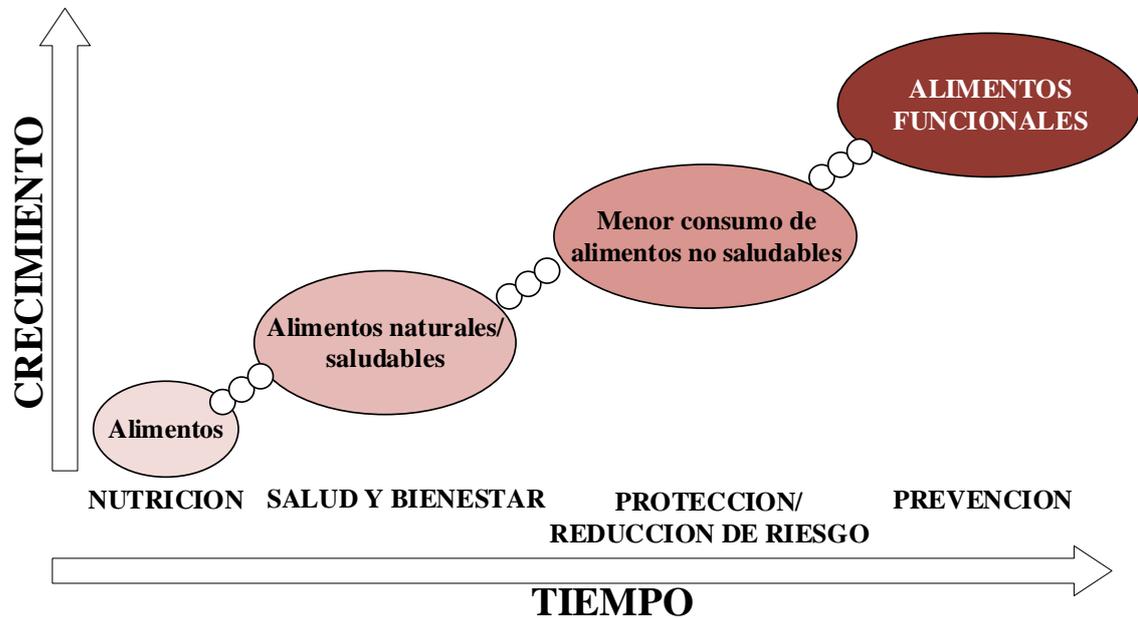


Figura 1. Tendencia de los alimentos funcionales

Fuente: Valenzuela, Valenzuela, Sanhueza, & Morales (2014)

En Europa aún no existe legislación específica sobre alimentos funcionales, sin embargo, existe un interés creciente de los consumidores europeos para mantenerse sanos gracias al consumo de alimentos saludables, fenómeno que está contribuyendo al desarrollo del mercado de los alimentos funcionales en Europa. (European Commission Community Research, 2000). En respuesta al creciente interés del consumidor, nuevos productos están apareciendo rápidamente por lo cual se vuelve necesario establecer normas que regulen el desarrollo y la publicidad de dichos alimentos (Roberfroid, 2005 citado por (Hernandez)).

En China el concepto de alimentación funcional es una noción milenaria. Resulta necesario distinguir entre uso tradicional de alimentos (en general plantas y animales deshidratados) y los alimentos que se encuentran normalizados por el Ministerio de Sanidad.

La legislación sobre declaraciones es muy estricta y exige un procedimiento de convalidación científica de institutos estatales. De América Latina podemos citar a Brasil y Chile como países con antecedentes legislativos sobre alegaciones y mensajes a consumidor que se aplican a nuevos alimentos. La legislación de Brasil sobre declaraciones de propiedades funcionales data de 1999; define los tipos de alegaciones y la documentación requerida para el registro del alimento, entre la que se encuentra la evidencia científica (ensayos nutricionales, toxicológicos, fisiológicos en animales, bioquímicos, epidemiológicos, clínicos, etc.). En 2002 se pone en vigencia el reglamento técnico sobre sustancias bioactivas y probióticos con alegaciones de función o salud. El objetivo es normalizar los procedimientos para la validación de seguridad, registro y comercialización de sustancias bioactivas y probióticos. Clasifica a los productos en siete categorías (probióticos, carotenoides, fitoesteroles, flavonoides, fosfolípidos, organosulfurados, polifenoles) y define los requisitos para cada una. (Olagnero et al., 2007).

Un alimento puede considerarse funcional si se demuestra satisfactoriamente que afecta beneficiosamente una o más funciones en el cuerpo, más allá de los efectos nutricionales adecuados, de una manera que es relevante para el estado de bienestar y la salud o la reducción del riesgo de enfermedad. (Roberfroid, 2002)

El concepto de alimento funcional tiene sus orígenes en Hipócrates con su lema “Permite que el alimento sea tu medicina”. Actualmente se encuentran estudios que empiezan a hacer real esta hipótesis debido a que la dieta juega un importante papel en la regulación de funciones fisiológicas en el cuerpo. (Valenzuela et al., 2014).

Asimismo se propone que “un alimento puede considerarse funcional si se demuestra satisfactoriamente que ejerce un efecto beneficioso sobre una o más funciones selectivas del organismo, además de sus efectos nutritivos intrínsecos, de modo tal que resulte apropiado para mejorar el estado de salud y bienestar, reducir el riesgo de enfermedad, o ambas cosas” (Olagnero et al., 2007).

Los antioxidantes son fuertes agentes reductores debido a las propiedades de óxido reducción de sus grupos hidroxilo y las relaciones estructurales entre diferentes partes de su estructura química, poniendo fin a la reacción en cadena, estabiliza así al átomo, que ha estado intentando encontrar una pareja para su electrón desaparejado. Ejercen sus propiedades protectoras previniendo la producción de radicales libres o neutralizando los producidos en el cuerpo en sus funciones habituales, como la respiración o la digestión. (Challem 2008)

Según el Consejo Internacional de Información Alimentaria (IFIC), los alimentos funcionales son "alimentos o componentes dietéticos que pueden proporcionar un beneficio para la salud más allá de la nutrición básica". El Instituto Internacional de Ciencias de la Vida de América del Norte (ILSI) ha definido alimentos funcionales como "alimentos que en virtud de los componentes alimentarios fisiológicamente activos proporcionan beneficios de salud más allá de la nutrición básica". Health Canada define los alimentos funcionales como "similares en apariencia a un alimento convencional, consumidos como parte de la dieta habitual, con beneficios fisiológicos demostrados, y / o para reducir el riesgo de enfermedades crónicas más allá de las funciones nutricionales básicas". alimentos como "alimentos fortificados con ingredientes agregados o concentrados a niveles funcionales, lo que mejora la salud o el rendimiento" (Wildman, 2007).

2.2.1.3. Tipos de alimentos funcionales

Los primeros alimentos funcionales desarrollados correspondían a aquellos fortificados con vitaminas y minerales tales como vitamina C, vitamina E, ácido fólico, zinc, hierro y calcio. Luego aparecieron los fortificados con varios micronutrientes tales como los omega 3, fitoesteroles y fibra soluble. Más recientemente las compañías de alimentos han desarrollado productos alimenticios que ofrecen múltiples beneficios a la salud en un único alimento. (Mancera Apolinar, 2010).

Un alimento o componente alimenticio funcional puede ser un macronutriente con un efecto fisiológico específico o un micronutriente esencial, pero también puede ser un componente alimenticio que aunque no tenga un alto valor nutritivo o no sea esencial, su consumo logre la modulación de alguna función en el organismo que reduzca el riesgo de enfermedad, como es el caso de la fibra y algunos microorganismos viables (Roberfroid 2000).

Los tipos de productos funcionales más comunes son:

- A. Los probióticos: principalmente bacterias de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, que de acuerdo a estudios realizados, dentro de sus beneficios se encuentran la reducción en la incidencia del estreñimiento, diarrea, cáncer intestinal y estimulación del sistema inmune (Vasiljevic & Shah, 2008)
- B. Fibras no digeribles y prebióticos: Las fibras dietéticas (celulosas, hemicelulosas y pectinas resistentes a la digestión por las enzimas endógenas del intestino humano) benefician las funciones gastrointestinales y se sugiere que previenen enfermedades como el cáncer colorectal, obesidad, diabetes mellitus y arteriosclerosis. Los prebióticos son

ingredientes alimenticios no digeribles que afectan benéficamente al huésped debido a que estimulan selectivamente el crecimiento y/o actividad de bacterias benéficas en el colon. Dentro de los principales prebióticos se encuentran los fructo-oligosacáridos, inulina, isomalto-oligosacáridos, povidexrosa, lactulosa y almidón resistente (Siró et al., 2008). Debido a la sinergia entre los probióticos y prebióticos, los alimentos que contienen una combinación de ellos son frecuentemente referidos como “Simbióticos”.

- C. Sustancias bioactivas, y vitaminas (compuestos antioxidantes): se pueden encontrar en las frutas y vegetales; son de gran interés debido a su rol en la prevención de enfermedades causadas como resultado del estrés oxidativo, productor de numerosos desordenes incluyendo mal función cardiovascular, cataratas, cáncer, reumatismos y muchas otras enfermedades (Kaur & Kapoor, 2001)

Dentro de este grupo encontramos los polifenoles, flavonoides, isómeros del ácido linoléico conjugado, isoflavonas, vitaminas A, B, C, E, tocoferoles, aceites vegetales poliinsaturados omega 3 y 6 entre otros.

2.2.1.4. Alimentos funcionales y salud

El cuerpo humano es un sistema abierto. Está influenciado por lo que consume. Así mismo el cuerpo humano está expuesto a toxinas, virus, bacterias, así como ambientes hostiles (calor, frío, aire, rayos UV, radiación, etc.). Estamos protegidos del medio ambiente por nuestros sistemas de defensa: 1) piel y pelos, 2) sistema inmune, 3) microflora, y 4) mecanismos antioxidantes. Somos lo que comemos. Los alimentos y la dieta pueden afectar a todos los mecanismos de defensa (Figura 2). Consumimos toneladas de alimentos en nuestra

vida, con nutrientes y componentes funcionales, que también contienen patógenos, toxinas y antígenos. Como se observa en la Figura 2, los alimentos que comemos no solo proporcionan energía y nutrientes, sino que también tienen un impacto en nuestra salud. Hay alrededor de 200-400 tipos diferentes de microorganismos en el tracto intestinal.(Guo, 2009).

Los alimentos funcionales o fitoquímicos, como se deduce de la literatura examinada, contribuyen a reducir la incidencia de muchas enfermedades crónicas. Asimismo, permiten mejorar el mecanismo de defensa biológica, el control efectivo de estado físico y mental y el retardo del proceso de envejecimiento de los seres humanos (Chasquibol et al., 2003).

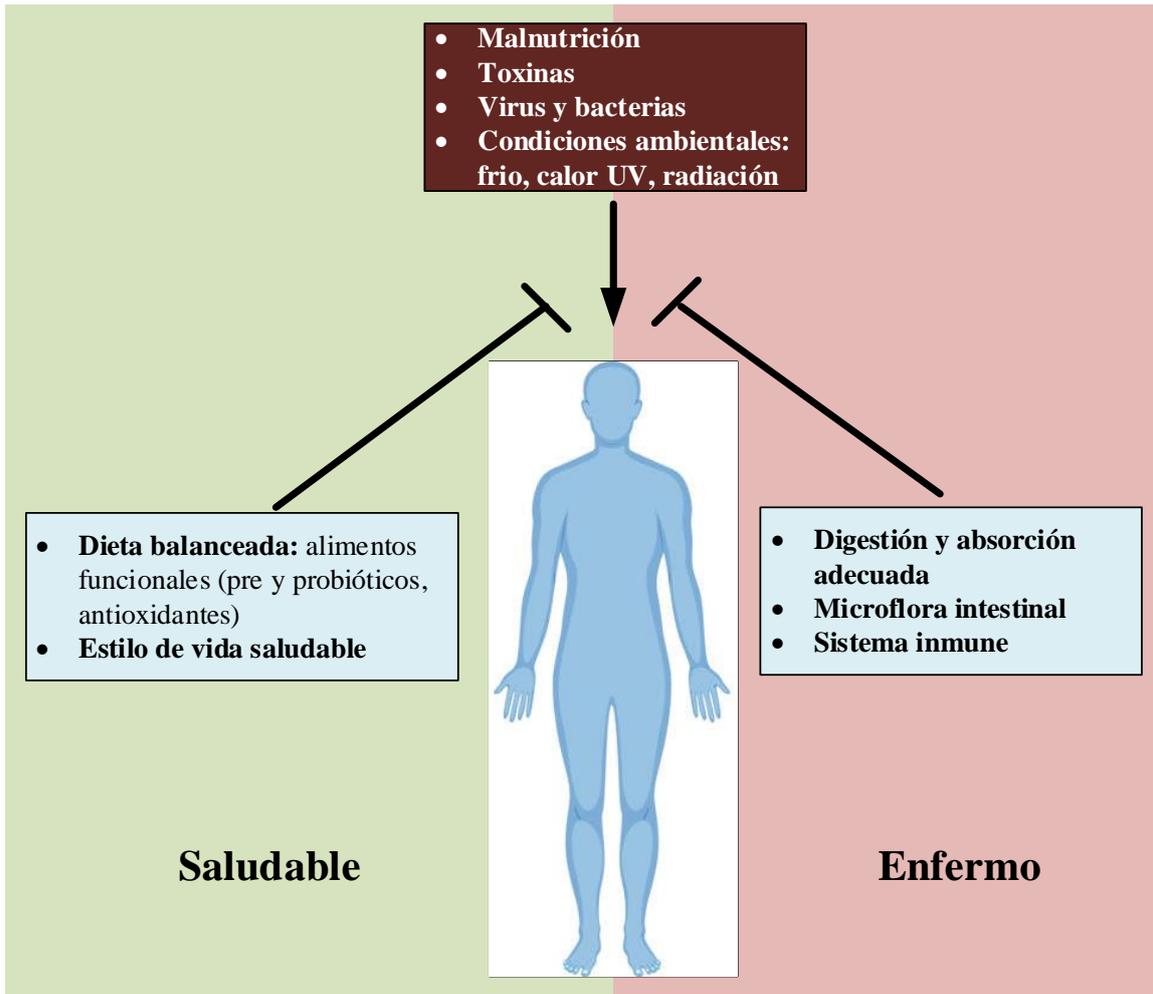


Figura 2. Relación de la salud y la dieta
Fuente: Adaptado de Guo (2009b).

2.2.1.5. Mercado de alimentos funcionales

Según (Shahidi & Alasalvar, 2016), el éxito de las empresas de alimentos y bebidas depende de su capacidad para desarrollar y comercializar nuevos productos que proporcionan a los consumidores un valor superior al de sus competidores. Sin embargo, el impulsor de la

innovación dentro del sector de alimentos funcionales a menudo se basa en investigación y desarrollo dentro de la empresa de alimentos, en lugar de en el consumidor.

Esto proporciona un impulso científico más que un enfoque de atracción del consumidor hacia la innovación y, a menudo, ha sido atribuido a fallas dentro del sector de bebidas funcionales, donde los nuevos productos frecuentemente no se encuentran dentro de las necesidades o expectativas del consumidor. Razones para las fallas de alimentos funcionales, que son relevantes para el funcionamiento de bebidas, incluyen demasiados beneficios de una sola marca, beneficios que a menudo no son relevantes para el consumidor, confiando en el poder de venta del ingrediente en lugar del beneficio, y utilizando un producto no relevante transportista. Por ejemplo, muchos productos enriquecidos en ácidos grasos omega-3 han tenido poco impacto en el mercado mundial. mercado ya que proporcionan beneficios que los consumidores no pueden ver o sentir rápidamente.

El desarrollo de nuevos productos orientado al mercado implica generar información sobre las necesidades de los consumidores y los motivos de elección, integrar esta información con las primeras etapas del proceso y desarrollar un producto óptimo con atributos que maximicen la aceptación del consumidor. La información reunida de bebidas funcionales puede incluir estudios sobre percepciones del consumidor de bebidas funcionales; que permitirá identificar segmentos de consumidores que son funcionalmente impulsados, por ejemplo, los consumidores que pagarán una prima por las bebidas con beneficios funcionales; comprender el conocimiento del consumidor de los beneficios para la salud asociados con ingredientes y declaraciones de propiedades saludables; identificando la clave intrínseca (textura, sensación

en la boca y sabor) y extrínseca atributos del producto (empaquete, marca y declaración de propiedades saludables) que influirán en la aceptación del consumidor; y cómo los consumidores interpretan el mensaje (a través de imágenes, colores e iconos) comunicado por embalaje de bebidas y el tipo de método de entrega.

La generación de información al consumidor es una parte importante del proceso de desarrollo de nuevos productos (NPD) que ayuda a identificar nuevas ideas, define el mercado objetivo más explícitamente, y luego ayuda en el diseño de estrategias de marketing específicas que posicionan nuevos productos en los mercados. El mercado de bebidas funcionales continúa creciendo a medida que la demanda de los consumidores de bebidas carbonatadas tradicionales disminuye, en línea con estilos de vida cambiantes de salud y bienestar del consumidor. Este mercado ofrece enormes oportunidades para las empresas que desarrollan bebidas orientadas al mercado, donde los atributos intrínsecos y extrínsecos están diseñados para cumplir de cerca las expectativas del consumidor, ofreciendo beneficios como parte de un estilo de vida saludable. Un enfoque orientado al mercado para el desarrollo de nuevas bebidas funcionales incorpora la voz de la información del consumidor en las primeras etapas del proceso NPD con el fin de aumentar la probabilidad de la aceptación del consumidor de sector de bebidas donde los consumidores se enfrentan a nuevas elecciones, innovaciones y marcas de una manera muy regularmente. (Shahidi & Alasalvar, 2016)

2.2.2. Frutas como alimentos funcionales

Las frutas han sido consideradas fuentes ricas de algunos productos esenciales micronutrientes y fibras dietéticas, y más recientemente han sido reconocidos como fuentes

importantes para una amplia gama de fitoquímicos que individualmente, o en combinación, puede beneficiar la salud (Stavric 1994; Rechkemmer 2001 mencionado por (De la Rosa et al., 2009)).

El efecto benéfico para la salud del consumo de frutas parece estar relacionado con la presencia de un grupo de sustancias bioactivas denominadas fitoquímicos. Estos efectos tienen reflejo en la fisiología cuando forman parte de un hábito alimentario, que hace que se ingieran estas sustancias durante un período largo, cuando los síntomas de la enfermedad que ayudan a combatirla todavía no han aparecido. Por otra parte, hay que tener en cuenta que los alimentos que los contienen previenen, pero no curan por sí solos, las enfermedades. Desde este punto de vista, el concepto clásico de «nutrición adecuada» que aporta los nutrientes suficientes (hidratos de carbono, proteínas, grasas, vitaminas y minerales) para satisfacer las necesidades orgánicas tiende a ser sustituido por el de «nutrición óptima», que incluye, además, la potencialidad de los alimentos para promocionar la salud, mejorar el bienestar y reducir el riesgo de desarrollar enfermedades. En este ámbito es donde, desde finales del siglo XX, aparecen los alimentos funcionales.

La intensa actividad biológica de los fitoquímicos, junto con la que muestran algunos micronutrientes, hace que ambos tipos de compuestos contribuyan a la denominación de determinados alimentos como funcionales. El *boom* de los alimentos funcionales surge en el momento en que el consumidor muestra su interés por contribuir a mantener una buena salud a través de la alimentación. (Martínez-Navarrete et al., 2008).

La ingesta constante de alimentos ricos en antioxidantes naturales como las frutas, se correlaciona bien con una reducción del riesgo de padecer ciertas enfermedades. En particular se ha observado una correlación inversa entre el consumo de alimentos ricos en compuestos biológicamente activos como polifenoles, con las enfermedades cardiovasculares. Además, esos alimentos pueden ejercer efectos anti-carcinogénicos y se asocian con un menor riesgo de padecer enfermedades degenerativas como la arterioesclerosis. Hay una creciente evidencia de que la vitamina C y los carotenoides puedan proporcionar efectos protectores contra enfermedades como el cáncer. En el Perú se producen diversas frutas que en función a la composición química se consideran dentro del grupo de alimentos funcionales. (Ramírez & Anibar, 2015).

2.2.2.1. Componentes bioactivos o fitoquímicos en frutas

Los alimentos de origen vegetal (frutas, hortalizas, cereales y alimentos derivados de ellos) son productos de gran interés, ya que, además de aportar macronutrientes y micronutrientes (hidratos de carbono, minerales, ácidos orgánicos, vitaminas y fibra), contienen una serie de sustancias que, aunque no tienen una función nutricional clásicamente definida, o no se consideran esenciales para la salud humana, pueden tener un impacto significativo en el curso de alguna enfermedad y ser indispensables a largo plazo para nuestra salud¹⁻⁶. Estas sustancias bioactivas o metabolitos secundarios de origen vegetal se denominan también fitoquímicos o fitonutrientes. Gracias a sus importantes propiedades, efectos biológicos y a sus atributos sensoriales, actualmente ocupan un área de investigación emergente y con un gran futuro, dada la enorme variedad de alimentos que los contienen.

En el reino vegetal, se pueden distinguir 4 grandes grupos de compuestos bioactivos, entre los que se incluyen sustancias de diversas familias químicas, como son las sustancias nitrogenadas, las azufradas, las terpénicas y, las más ampliamente estudiadas, las fenólicas. (Martínez-Navarrete et al., 2008)

Los bioactivos son compuestos que producen esos efectos fisiológicos cuando están presentes en un material vivo, en otras palabras, deben ejercer beneficios fisiológicos relacionados con la promoción de la salud y prevenir los efectos de una enfermedad (por ejemplo, reducción de la presión arterial, reducción de la glucosa en sangre, etc.) Cuando los bioactivos se toman por vía oral, el compuesto debe resistir la digestión que destruirá la estructura activa y la hará fisiológicamente inactiva. Pero, en algunos casos, la parte inactiva del compuesto falla activa una vez que se consume, como resultado de la acción de las enzimas digestivas presentes en el tracto gastrointestinal. (Skinner & Hunter, 2013)

Los compuestos bioactivos pueden ejercer su efecto fisiológico dentro del tracto digestivo y pueden en la mayoría de los casos, el compuesto debe ser absorbido por el tracto gastrointestinal en el sistema circulatorio de la sangre, desde donde se lleva a los órganos. Los alimentos que contienen compuestos bioactivos, y que se consumen como parte de una dieta normal, se llaman alimentos funcionales (Shahidi, 2009)

Las frutas y verduras contienen una amplia variedad de compuestos antioxidantes (fitoquímicos), como fenoles y carotenoides que protegen a las células del daño oxidativo y disminuyen el riesgo de adquirir una enfermedad crónica.

En estudios previos se estableció que el consumo de frutas contribuye a la prevención de cáncer (pulmón, colon, mama, cuello uterino, esófago, cavidad oral, estómago, vejiga, páncreas y ovario). Los consumidores de bajo nivel (<500 mg / día) tenían el doble riesgo de desarrollar cáncer en comparación con los consumidores de alto nivel (500-1000 mg / día). (Urquiza-Martínez & Fenton Navarro, 2016)

2.2.2.1.1. Polifenoles

Los polifenoles son un grupo importante de fitoquímicos y se subclasifican en dos principales grupos: fenólicos y flavonoides. Una amplia gama de compuestos fenólicos y flavonoides son reportado en frutas y vegetales. Contenido de fenol y flavonoides en frutas y verduras puede ser influenciado por la variedad, condiciones ambientales y de crecimiento, etapas de madurez y factores de cosecha (Tiwari, Brunton, & Brennan, 2013).

Son los antioxidantes más abundantes en las dietas humanas. Ellos son secundarios metabolitos de plantas. Estos compuestos están diseñados con un anillo aromático que lleva uno o más restos hidroxilo. Varias clases se pueden considerar de acuerdo con el número de anillos de fenol y a los elementos estructurales que unen estos anillos. En la Figura 3, se observa compuestos bioactivos predominantes presentes en frutas.

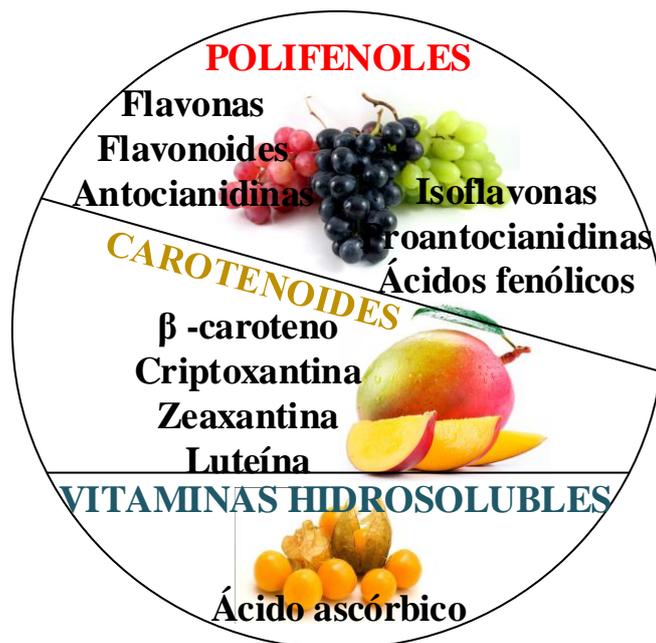


Figura 3. Principales compuestos bioactivos en frutas.
Fuente: Adaptado de Tiwari et al (2013)

Según (Martínez-Navarrete et al., 2008), los compuestos fenólicos, presentes fundamentalmente en las frutas rojas, en las moradas, en los cítricos y en la manzana, se pueden clasificar en flavonoides (antocianinas, flavonoles y flavonas, flavanonas, chalconas y dihidrochalconas, isoflavonas —aunque éstas se encuentran casi exclusivamente en legumbres— y flavanoles), fenilpropanoides (derivados de ácidos hidroxicinámicos, como el cafeico, ferúlico sinápico y p-cumárico), estilbenoides (resveratrol y piceatanol) y derivados del ácido benzoico (ácidos gálico y elágico). De todas estas sustancias bioactivas, el grupo mayoritario es el de los flavonoides, del que se conocen más de 5.000 compuestos diferentes.

Las frutas son una fuente importante de polifenoles en el la dieta humana y la cuantificación adecuada de estas sustancias es de importancia fundamental. Las principales

metodologías utilizadas para cuantificar los compuestos bioactivos en frutas, es el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu que estima el total de polifenoles (TPC), el ensayo colorimétrico de cloruro de aluminio que cuantifica el total de flavonoides (TF) y antocianinas totales (TA). Analizadas por el método diferencial de pH, que se basa sobre el cambio estructural del cromóforo antocianina entre valores de pH de 1.0 y 4.5. La cuantificación de compuestos fenólicos se suele realizar mediante análisis espectrofotométrico. Donde la región visible del espectro se usa para cuantificar fenoles totales, flavonoides y taninos, entre otros sustancias.(Haminiuk, Maciel, Plata-Oviedo, & Peralta, 2012).

La estructura química de los flavonoides consta de un esqueleto difenilpropano (C6-C3-C6) formado por dos anillos aromáticos (A y B) unidos a través de tres átomos de carbono que forman un heterociclo oxigenado (C). **Figura 4.**

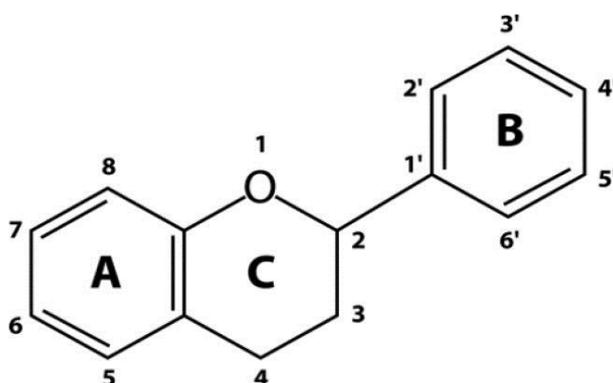


Figura 4. Estructura básica de los flavonoides y sistema de numeración.

Los flavonoides son los principales compuestos bioactivos que se encuentran en las frutas. Incluyen un grupo más grande de antioxidantes naturales (Haminiuk et al., 2012). La estructura de los flavonoides contiene un C₆-Esqueleto de carbono C₃-C₆ (dos anillos aromáticos unidos por una cadena alifática de tres carbonos que es condensado para formar un piran o un anillo de furano). Los flavonoides comprenden subclases de flavonas, isoflavonas, flavonoles, flavanos, flavanonas, antocianidinas, antocianinas y chalcones. Flavonoides que están vinculados a uno o más las moléculas de azúcar se llaman glucósidos flavonoides; cuando no están conectados a (Shahidi y Naczki, (1995).mencionado por (Skinner & Hunter, 2013)).

Según (Chasquibol et al., 2003), los flavonoides incluyen las flavonas y las isoflavonas, las cuales se encuentran en varias frutas y vegetales. La soya y el tolu son ricas fuentes de flavonoides no cítricos; las frutas cítricas son ricas fuentes de flavonoides cítricos, incluyendo los compuestos diosmina y hesperidina, que son encontrados en toronjas y naranjas. Estos compuestos favorecen también los efectos del ácido ascórbico (vitamina C). Los flavonoides han sido agrupados como:

- Flavonas (contienen el flavonoide apigenina que se encuentra en la camomila)
- Flavonoles (quercetina: toronja; rutina: alforfón; ginkgo)
- Flavononas (hesperidina: frutas cítricas; silibina)

Los flavonoides a su vez se dividen en diferentes familias dependiendo del estado de oxidación del heterociclo. De este modo distinguimos entre flavonas, isoflavonas, flavanonas, flavonoles, flavanoles y antocianidinas. Dentro de cada clase, los miembros difieren en el patrón de hidroxilación de sus dos anillos fenólicos, y por la naturaleza y la posición de los sustituyentes, que puede ser diferentes grupos como grupos metilo o azúcares. Los

flavonoides que se encuentran libres, sin estar unidos a otros grupos, se denominan agliconas, mientras que los que se encuentran glucosilados se denominan glucósidos de flavonoides (Manach, Scalbert, Morand, Rémésy, & Jiménez, 2004)

2.2.2.1.2. Carotenoides

Los carotenoides son tetraterpenoides, compuestos de 40 átomos de carbono formados por ocho unidades isoprenoides unidas de forma que la secuencia se invierte en el centro de la molécula. Es decir, la unión de dichas unidades es “cabeza-cola”, excepto en el centro de la molécula, donde es “cabeza-cabeza”. Debido a ello, los dos grupos metilo centrales de la cadena poliénica están separados por seis átomos de carbono, mientras que el resto están separados por cinco. Considerando los elementos químicos presentes en sus moléculas, los carotenoides pueden dividirse en dos grandes grupos: carotenos, que son hidrocarburos, y xantófilas, que contienen átomos de oxígeno. Éste puede estar presente en forma de grupo hidroxilo zeinoxantina, lactucaxantina, etc.), metoxilo (esferoidenona, espiriloxantina, etc.), epóxido (anteraxantina, licopeno-1,2-epóxido, etc.), carbonilo (capsantina, esferoidenona, etc.) o carboxilo (norbixina, neurosporaxantina, etc.). Otros grupos oxigenados presentes en carotenoides son acetatos (fucoxantina, dinoxantina, etc.), lactonas (peridinina, uriólido, etc.) y sulfatos (caloxantina-3-sulfato (Meléndez-Martínez, Vicario, & Heredia, 2007) (Meléndez-Martínez et al., 2007)

En la molécula de los carotenoides pueden existir anillos, de ahí que se puedan clasificar como cíclicos o acíclicos. Los distintos grupos terminales presentes en los carotenoides se representan en la **Figura 5**.

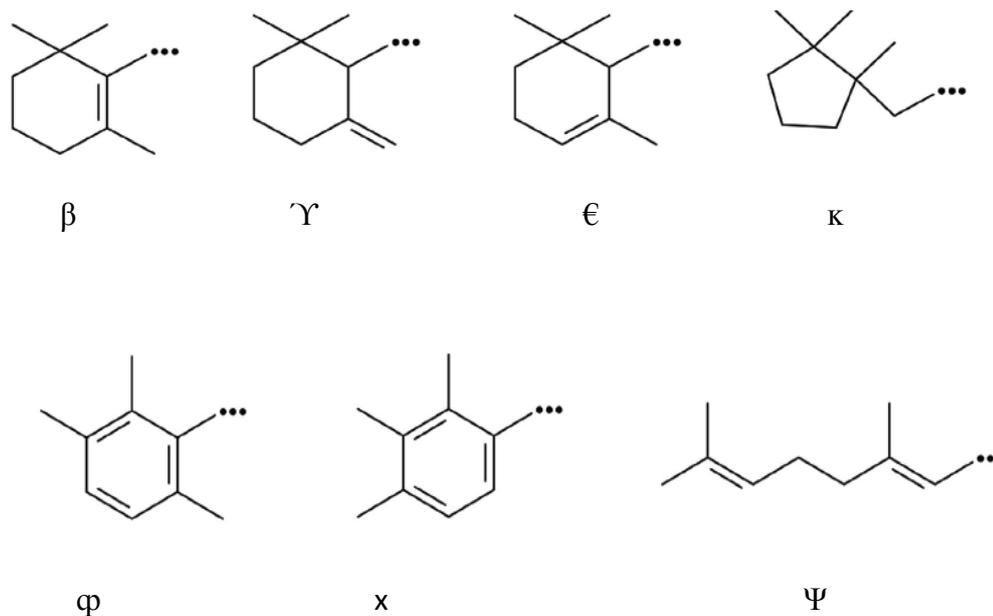


Figura 5. Grupos terminales en moléculas de carotenoides

Fuente: Adaptado de Meléndez–Martínez (2016)

Según (Meléndez-Martínez et al., 2007), el estudio de isómeros geométricos de carotenoides resulta muy interesante debido a que presentan distintas actividades o reactividad frente a diversos agentes y que podrían absorberse en diferente medida. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que los isómeros cis pueden ser en ocasiones producidos durante la manipulación de las muestras o debido a tratamientos tecnológicos o culinarios. Por otra parte, muchos de los carotenoides naturales poseen centros quirales, por lo que pueden existir diversos isómeros ópticos de cada uno de ellos, como es el caso de la zeaxantina (**Figura 6**), capsantina, aloxantina, neoxantina y muchísimos otros.

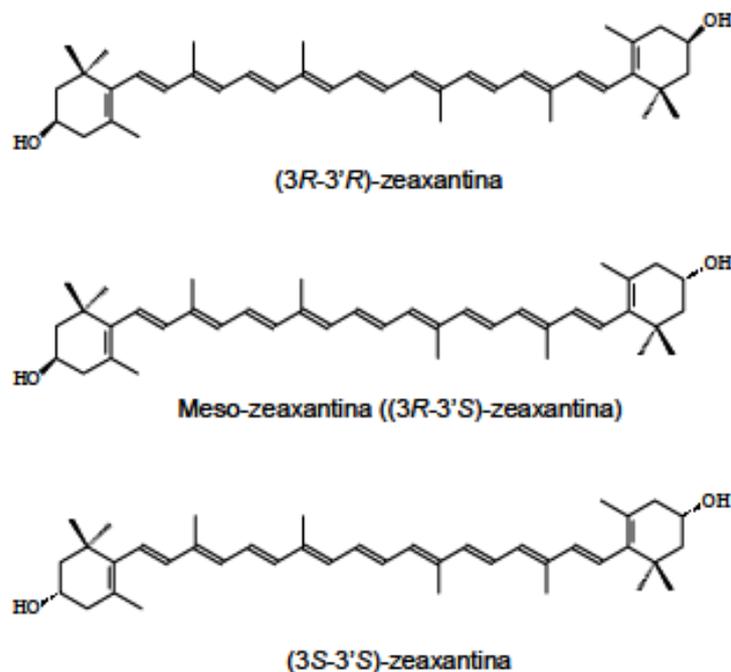


Figura 6. Configuraciones de la zeaxantina

Fuente: Meléndez-Martínez et.al. (2007)

Las frutas y verduras contienen una amplia variedad de compuestos antioxidantes (fitoquímicos), como fenoles y carotenoides que protegen a las células del daño oxidativo y disminuyen el riesgo de adquirir una enfermedad crónica. En estudios previos se estableció que el consumo de frutas contribuye a la prevención de cáncer (pulmón, colon, mama, cuello uterino, esófago, cavidad oral, estómago, vejiga, páncreas y ovario). Los consumidores de bajo nivel (<500 mg / día) tenían el doble riesgo de desarrollar cáncer en comparación con los consumidores de alto nivel (500-1000 mg / día) (Urquiza-Martínez & Fenton Navarro, 2016).

Los estudios epidemiológicos vienen demostrando que el consumo de frutas y vegetales ricos en carotenoides están asociados con una menor incidencia de enfermedades degenerativas como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, degeneración macular relacionada con la edad y la formación de cataratas. Estudios experimentales y observacionales retrospectivos y prospectivos se realizaron en diversos países para correlacionar la ingesta de carotenoides y la prevención del cáncer (**Tabla 1**).

Tabla 1
Investigaciones relacionadas con el consumo de carotenoides y la incidencia de cáncer.

Referencia	Estudio	Compuesto	Tipo de cáncer	Conclusión
(Kabat et al., 2009)	Longitudinal concentración suero	Carotenoides Retinol Tocoferol	Cáncer de mama en mujeres postmenopáusicas	El cáncer de mama invasivo fue negativamente asociado a las concentraciones iniciales de licopeno - α -caroteno y β -caroteno.
(Challem 2008)	Experimental	Extracto de <i>C. ellipsoidea</i> (Violaxantina, anteraxantina, zeaxantina) Extracto de <i>C. vulgares</i> (Luteína)	Cáncer de cuello	- Los dos extractos realizaron la intensidad fluorescente de la población de células apoptóticas en las células HCT116. - Los resultados indican que las xantófilas bioactivos de la <i>C. ellipsoidea</i> pueden ser utilizados como ingredientes funcionales para la prevención del cáncer de cuello.
(Mikhak et al., 2008)	Cohorte	Licopeno	Cáncer de próstata	- El gen MnSOD Ala16Val polimorfismo no se asoció al riesgo de cáncer de próstata total o agresiva. - Individuos con el genotipo MnSOD Ala / Ala que tuvieron un bajo consumo de licopeno a largo plazo tuvieron un mayor riesgo de cáncer agresivo comparado con otros genotipos. - Cuando el nivel de antioxidante está bajo, el genotipo MnSOD Ala / Ala puede estar asociado con el aumento del riesgo de cáncer agresivo a próstata.
(Persson et al., 2008)	Casos control	Carotenoides	Cáncer de estómago	- β -caroteno y α -caroteno fueron inversamente asociados al cáncer de estómago en hombres, para mujeres, sólo el β -caroteno. - No se encontró ninguna asociación estadística entre luteína, zeaxantina, licopeno, retinol, α -tocoferol y γ -tocoferol y la incidencia de cáncer de estómago. - Los resultados indicaron que aquellos que poseen niveles muy bajos de α - caroteno y β -caroteno en plasma tienen mayor riesgo de desarrollar cáncer.
(Thomson et al., 2008)	Prospectivo	Vitamina C Vitamina E selenio carotenoides Vitamina A	Cáncer de ovario	- El modelo multivariado de incidencia de cáncer de ovario no ha indicado ninguna relación significativa entre los factores dieta y la incidencia de cáncer de ovario - Los resultados indicaron que la ingestión de antioxidantes, carotenoides y vitamina A en la dieta no está asociado a la reducción de la incidencia de cáncer de ovario.
(Lunet, Valbuena, Carneiro, Lopes, & Barros, 2006)	Casos control	Carotenoides provitamina A Vitamina C	Cáncer de estómago	- La ingesta de carotenoides (provitamina A) y vitamina C fueron inversamente asociados a la incidencia de cáncer gástrico.

Fuente: Adaptado de (Kobori, 2010).

2.2.2.2. Mango (*Mangifera indica* L)

El mango (*Mangifera indica* L.) es uno de las frutas más importantes en el mundo y ocupa el quinto lugar en la producción mundial total de cultivos frutales importantes (Abdul Aziz, Wong, Bhat, & Cheng, 2012) (Figura 7). Taxonómicamente el mango se clasifica:

Reino : Plantae
División : Fanerógamas
Sub División : Angiosperma
Clase : Dicotiledoneae
Sub Clase : Archichramydeas
Orden : Spindales
Familia : Anacardeaceas
Sub Familia : Proanacaeidiaceae
Género : Mangifera
Especie : Mangifera Indica L.



Figura 7. Fruto del mango

El mango está reconocido en la actualidad como uno de los 3 ó 4 frutos tropicales más finos aparentemente es originario del noroeste de la India y el norte de Burma en las laderas del Himalaya y posiblemente también de Ceilán.

La India es el principal productor de mango con el 35% de la producción mundial (13,6 millones de toneladas), seguido de China, Tailandia, Indonesia, México y otros (FAOSTAT, 2009). Sin embargo, esta especie se cultiva en todos los países de Latinoamérica, siendo México el principal país exportador del mundo. El Perú es un país mega diverso que cuenta con más de 84 de las 104 zonas de vida aproximadamente, reconocidas en el mundo, ello y la diversidad de sus pisos ecológicos, le da la ventaja de poder cultivar prácticamente cualquier producto y durante todo el año. El mango, es considerada la fruta tropical más conocida del mundo, está creciendo en popularidad en los mercados internacionales, debemos tener en cuenta que los departamentos de Piura, Lambayeque, La Libertad, Cajamarca y Ancash, poseen extraordinarios valles para el cultivo de mango; estos valles cuentan con una superficie sembrada de 15 mil hectáreas de mango de calidad de exportación, de las variedades Haden, Kent, Keit y Tommy Atkins.

La exportación de mangos peruanos está dirigida a diversos países del mundo, destacando los mercados de Alemania, Canadá, Colombia, España, Francia, Holanda, Inglaterra, Italia, Arabia Saudita y Panamá y con tratamiento hidrotérmico para los mercados de Nueva Zelanda y Estados Unidos. Los estándares de calidad alcanzados por el mango peruano responden a dos factores: el país cuenta con condiciones climáticas inigualables para la producción de las variedades más apreciadas y la industria ha desarrollado modernas

técnicas de cultivo, cosecha y embalaje que permite aprovechar al máximo el potencial productivo y lograr mejores precios (Barranzuela Mendocilla, 2014)

Se recomienda para plantación comercial para el consumo directo y para el procesamiento (para preparar mermeladas, dulces, etc.), debido a su agradable sabor y sabor único el mango, es una fruta de temporada altamente perecedera, sufre un desperdicio post-cosecha significativo durante su temporada alta, principalmente como resultado de un manejo inadecuado. El manejo de pobres tecnologías en sistema de post-cosecha es una de las principales limitaciones para la producción anual.(Abdul Aziz et al., 2012)

2.2.2.2.1. Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante del mango

El mango tiene altos contenidos de fitoquímicos que le confieren efectos benéficos para la salud. El consumo de mango puede ser esencial para que el organismo humano funcione en forma adecuada. En la Tabla 2 se muestra el contenido de componentes bioactivos promedio del mango; aunque estos pueden ser influidos por distintos factores genéticos y ambientales las condiciones de cultivo, estado de maduración del fruto, exposición a la luz, entre otros. Estudios de investigación reportan que el mango contiene altos niveles de compuestos bioactivos como polifenoles, vitamina C, carotenoides, antocianina y flavonoides.(Abdul Aziz et al., 2012)

En particular, el mango en casi todas sus variedades es una fuente rica de ácido ascórbico y carotenoides, que aunados a sus compuestos fenólicos, hacen sinergia específica en la capacidad antioxidante total de cada variedad. Cien gramos de pulpa de mango es suficiente para cubrir el 146, 69 y 45 % de la ingesta diaria recomendada de ácido ascórbico en mexicanos de 4-8, 9-18 y 19-50 años respectivamente. Sin embargo, existe una gran variabilidad en la composición nutrimental del mango producto de factores edafológicos, climáticos, estado de madurez, variedad y en incluso en la posición de los frutos en un mismo árbol.

El jugo de mango comercial todavía tiene un alto nivel de contenido fenólico y capacidad antioxidante en comparación con pulpa de mango fresco. El jugo de mango comercial en el mercado de Malasia tiene un contenido fenólico total de 12.56 mg equivalentes de ácido gálico (GAE) / L en comparación con el jugo de mango fresco (9.26 mg GAE / L).

Asimismo, el jugo de mango comercial tiene una capacidad antioxidante comparable al jugo de fruta fresca de mango medido por el método del 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) (Shahidi & Alasalvar, 2016).

Tabla 2
 Contenido de compuestos bioactivos del mango (*Mangifera indica L.*) en 100 g

Compuesto bioactivo	Contenido
Cianidina (µg)	0,10
Delfinidina (µg)	0,02
Catequina (µg)	1,72
Luteloína (µg)	0,02
Kaempferol (µg)	0,01
Mirecitina (µg)	0,03
β-Caroteno (mg)	445
α – Tocoferol (mg)	1,10
Ácido ascórbico (mg)	80,00

Fuente: (Wall-Medrano et al., 2015)

2.2.2.3. Noni (*Morinda citrifolia*)

El género *Morinda* (Rubiaceae), que incluye la especie de *Morinda citrifolia L.*, está formado por alrededor de 80 especies, es un arbusto de 3 a 10 m de altura con abundantes hojas anchas elípticas de 5-17 cm de largo y 10 a 40 cm de ancho. Sus frutos tienen de 3-10 cm de largo y 3-6 cm de ancho con colores que varían de verde a amarillo hasta casi blanco al momento de su recolección. Cuando el fruto está maduro despiden un fuerte olor a rancio semejante al del ácido butírico. La pulpa es jugosa y amarga, de color amarillo opaco o blanco y aspecto gelatinoso, presentando numerosas cavidades triangulares de color marrón rojizo los cuales contienen cuatro semillas.

La cáscara de los frutos está cubierta de pequeñas protuberancias, cada una de las cuales contiene una semilla (Ulloa J., Ulloa P., Ramírez, & Rangel, 2012). (**Figura 8**).



Figura 8. Fruta del noni
Fuente: Ulloa et al (2012)

El noni pertenece etimológicamente al género *Morinda* proveniente del latín *Morus* = mora e indo que es relativo a la India, por el parecido del fruto a una mora y su procedencia Citrifolia, del latín *Citrifolius*- a-um = con hojas parecidas a la de un cítrico (Rengifo Laurell, 2008).

Taxonómicamente el noni tiene la siguiente clasificación:

División:	Fanerógama
Subdivisión:	Angiosperma
Clase:	Dicotiledónea
Orden:	Rubiales
Familia:	Rubiáceae
Género:	Morinda
Especie:	Citrifolia
Nombre científico:	<i>Morinda citrifolia</i> Linn
Nombre común:	Noni

2.2.2.3.1. Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante del noni

Se han identificado aproximadamente 160 compuestos fitoquímicos en la planta de noni, siendo los principales compuestos fenólicos, ácidos orgánicos y alcaloides (**Tabla 3**).

Tabla 3

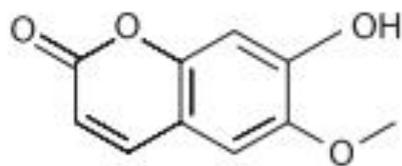
Contenido de compuestos bioactivos en pulpa de noni (Morinda citrifolia)

Compuesto	Contenido (mg /L)	Referencias
Flavonoides	2,9	(Dussosoy et al., 2011)
Quercetina	46,3	(Dussosoy et al., 2011)
Rutin		
Iridoid	1441	(Deng et al., 2011)
Ácido Deacetylasperulosidic	1591	(Dussosoy et al., 2011)
Ácido Deacetylasperulosidic	218	(Deng et al., 2011)
Ácido asperulosídico	716	(Dussosoy et al., 2011)
Ácidos grasos	492	(Basar & Westendorf, 2011)
Ácido decatrienóico	329	(Pino, Márquez, & Castro, 2009)
Ácido hexanoico	3058	(Pino et al., 2009)
Coumarinas	114	(Basar & Westendorf, 2011)
Escopoletina	2,0	(Dussosoy et al., 2011)
Esculetina		
Fenólicos	3,5	(Dussosoy et al., 2011)
Vanillina	2,6	(Dussosoy et al., 2011)

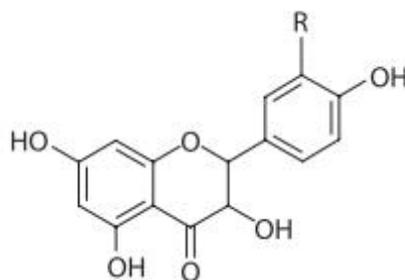
Fuente: Adaptado de Shahidi & Alasalvar (2016)

Entre los compuestos fenólicos más importantes figuran la rutina, quercetina y kaempferol, los flavonoides predominantes en el jugo de noni con potente actividad antioxidante y la escopoletina un derivado de coumarina presente en forma glicosilada en

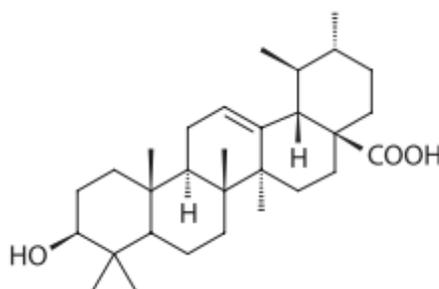
jugos frescos de noni (**Figura 9**). La concentración promedio de escopoletina en jugo obtenido a partir de frutas maduras es de 114 mg/L, mientras que en bebidas comerciales varía entre 9 y 235 mg/L (Shahidi & Alasalvar, 2016). La escopoletina es un potente antioxidante que ha demostrado inhibir el radical anión superóxido; así como de restablecer la actividad de enzimas antioxidantes tales como superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa. Asimismo, la escopoletina es capaz de inhibir la formación de moléculas proinflamatorias tales como el óxido nítrico, prostaglandina, y el factor α de necrosis tumoral (TNF- α). La escopoletina suele ser hidrolizado en proceso de fermentación y por tanto se encuentra predominantemente es hidrolizado y liberando como aglicona, que es la forma predominante en el jugo de fruta noni disponible en el mercado (Shahidi & Alasalvar, 2016). Otro compuesto bioactivo presente en jugo de noni es el ácido ursólico, es un triterpeno con potente actividad antioxidante, actividad anticancerígena y antiinflamatoria; sin embargo, no existe información de la concentración en el jugo de noni (Shahidi & Alasalvar, 2016).



Escopoletina



Kaempferol (R=H)
Quercetina (R=OH)



Acido ursólico

Figura 9. Principales compuestos bioactivos presentes en pulpa de noni.

Fuente: Adaptado de Shahidi & Alasalvar (2016).

2.2.2.4. Aguaymanto (*Physalis peruviana* Linnaeus),

El aguaymanto, es una planta originaria del Perú, el centro de origen fueron los Andes peruanos, aunque también se ha identificado en los andes ecuatorianos una área más grande para el origen de la fruta (Ramírez & Anibar, 2015). En el Perú, es en la sierra (Cusco, Huánuco, Huancavelica, Junín y Cajamarca) donde predominantemente se cultiva el aguaymanto, aunque también se produce en algunas regiones de la costa y selva. El

aguaymanto, también conocida como uchuva en Colombia, uvilla en Ecuador, topotopo en Venezuela y goldenberry en países anglosajones (Puente, et al., 2011).

El aguaymanto (*Physalis peruviana* Linnaeus), es una planta herbácea, semi-arbórea, erguida y perenne en zonas subtropicales, que puede crecer hasta 0,6 a 0,9 m, en algunos casos hasta 1,8 m. La flor puede ser fácilmente polinizada por los insectos, el viento y también por auto-polinización. La fruta es una baya jugosa con forma ovoide y un diámetro entre 1,25 a 2,50 cm, 4 y 10 g de peso y contiene alrededor de 100 a 200 pequeñas semillas. La fruta está protegida por el cáliz o cesta que la envuelve completamente durante su desarrollo y maduración, protegiéndolo contra insectos, aves, enfermedades y situaciones climáticas adversas (**Figura 10**) (Cedeño & Montenegro, 2004).



Figura 10. Fruto del aguaymanto

Fuente: (Cedeño & Montenegro, 2004).

Según Morton (1997), el aguaymanto presenta la siguiente clasificación taxonómicamente:

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Orden	:	Solanales
Familia	:	Solanaceae
Subfamilia	:	Solanoideae
Tribu	:	Physaleae
Subtribu	:	Physalinae
Género	:	Physalis
Especie	:	<i>Physalis peruviana L.</i>

2.2.2.4.1. Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante del aguaymanto

El aguaymanto contiene provitamina A, vitamina C y minerales y un alto nivel de fósforo, poco frecuente en una fruta. Asimismo, tiene altos niveles de fibra en forma de pectina, por lo que su ingesta podría favorecer la regulación intestinal (Ramadan, 2011). Los efectos beneficios de la fruta se asocia a su contenido de componentes biológicamente activos tales como caroteno, ácido ascórbico y compuestos fenólicos que proporcionan beneficios de salud y reducen el riesgo de ciertas enfermedades (Puente, Pinto-Muñoz, Castro, & Cortés, 2011). En la **Tabla 4** se observa el contenido de compuestos bioactivos del aguaymanto.

Tabla 4
Compuestos bioactivos del aguaymanto (Physalis peruviana L.)

Componentes	Contenido
Compuestos bioactivos	
Caroteno (mg /100 g)	1,6
Ácido ascórbico (mg /100 g)	43,0 – 1831
Compuestos fenólicos totales (mg /100 g) ¹	79,23 ± 0,41

Fuente: (Mohamed F Ramadan & Morsel, 2004)

El aguaymanto ha demostrado poseer capacidad antioxidante en diferentes sistemas *in vitro* (Puente et al., 2011). En la **Tabla 5** se presenta la capacidad antioxidante de la pulpa de aguaymanto frente a radicales DPPH y el ensayo FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) (Puente et al., 2011).

Tabla 5
Capacidad antioxidante del aguaymanto (Physalis peruviana L.)

	Capacidad antioxidante	
	Restrepo (2008)	Botero (2008)
DPPH (µmol de trolox/100 g muestra)	210,82 ± 9,45	192,51 ± 30,13
FRAP (mg ácido ascórbico/100 g muestra)	56,53 ± 1,38	54,98 ± 7,14

Fuente: Puente et al. (2011)

2.2.3. Antioxidantes

2.2.3.1. Definición

Los antioxidantes se definen como sustancias naturales o sintéticas que a concentraciones relativamente bajas son capaces de retrasar, prevenir o eliminar el daño oxidativo de biomacromoléculas tales como lípidos, proteínas y ADN (Urquiza-Martínez & Fenton Navarro, 2016). Desde el punto de vista químico, los antioxidantes participan en reacciones de oxi-reducción cediendo un electrón o un átomo de hidrógeno (agentes reductores). En sistemas biológicos, los antioxidantes evitan daño oxidativo (estrés oxidativo, un estado de desequilibrio redox), captando directamente o neutralizando especies reactivas de oxígeno (ROS) o especies reactivas de nitrógeno (RNS) denominadas en su conjunto como radicales libres -moléculas que tienen un electrón desapareado (Mateos-Martín, 2013) (Challem 2008) (Avello & Suwalsky, 2006). Un estado de estrés oxidativo se asocia con numerosas enfermedades crónicas y degenerativas, como puede ser enfermedades cardiovasculares, alzhéimer o ciertos tipos de cáncer entre otras (Halliwell, 1996)

2.2.3.2. Tipos de antioxidantes

Tradicionalmente los antioxidantes han sido divididos en dos grupos, los primarios o antioxidantes que evitan la reacción oxidativa en cadena *chain-breaking*, que principalmente actúan como inhibidores de ROS o RSN y los secundarios o antioxidantes preventivos, los que usualmente actúan como quelantes de metales de transición (Apak, Özyürek, Güçlü, & Çapanoğlu, 2016a).

Desde la perspectiva de la tecnología de los alimentos, los antioxidantes se incorporan como aditivos alimentarios (**Tabla 6**). Los aditivos que directamente reaccionan con los radicales peróxidos generalmente derivados de la oxidación de lípidos y forman productos no radicales inactivos, son denominados antioxidantes. Otros aditivos (quelantes) estabilizan los hidroperóxidos lipídicos, evitando su descomposición en radicales libres catalizadas por metales pesados. Otras sustancias como el ácido cítrico no tienen actividad antioxidante en sí mismos, pero pueden aumentar la actividad de los verdaderos antioxidantes (Pokorny, Yanishlieva, & Gordon, 2001).

Tabla 6
Mecanismos de actividad antioxidante

Tipo de antioxidante	Mecanismos de actividad antioxidante	Compuesto químico
Antioxidantes	Inactivación lipídica de radicales	Fenólicos
Estabilizadores de hidroperóxido	Prevención de la descomposición de compuestos fenólicos estabilizadores hidroperóxidos en forma gratuita	Fenólicos
Sinergismo	Promover la actividad de propiedades antioxidantes	Ácido cítrico
Quelantes de metales	Unión de metales pesados y compuestos inactivos.	Ácido fosfórico, compuestos de Maillard,
Sustancias que reducen los hidroperóxidos	Reducción de hidroperóxidos en de una manera no radical	Proteínas, aminoácidos

Fuente: Adaptado de (Pokorny et al., 2001)

2.2.3.3. Métodos *in vitro* de evaluación de capacidad antioxidante

Debido a la complejidad de los procesos oxidativos no existe un único método que refleje de forma completa el perfil antioxidante de una muestras, de ahí que existen numerosos procedimientos *in vitro*, basados en diferentes mecanismos, para la determinar la capacidad antioxidante de alimento (Marinova & Batchvarov, 2011).

Según (Sánchez-Moreno, 2002) los métodos pueden ser clasificados en:

- **Directos:** En estos métodos el antioxidante se adiciona antes o después de la generación del radical. En aquellos de post-adición, el radical se forma en ausencia de la muestra y cuando está última es añadida se produce un descenso en la señal debido a la disminución de la concentración del radical. En los procedimientos de inhibición, la muestra se añade a los sustratos de oxidación antes que sea generado el radical, La reacción comienza con la adición del oxidante (ABTS⁺, DPPH, etc).
- **Indirectos:** La presencia de radicales libres produce la pérdida o aparición de un reactivo; por tanto, en presencia de un antioxidante se provoca el aumento o disminución de la señal (métodos, ORAC, FRAP, etc).

Según Apak et al (2016a, 2016b), desde un punto de vista mecanístico, los métodos *in vitro* de evaluación de la capacidad antioxidante se clasifican en:

- **Métodos basados en la transferencia de electrones (ET)**

El mecanismo de acción de transferencia de electrones de un antioxidante (AH/ArOH) con un radical biológicamente (ROO[•]) relevante se basa en la siguiente reacción:



Los métodos basados en la transferencia de electrones o reducción consideran el hecho de que los antioxidantes son también buenos agentes reductores capaces de secuestrar de manera reductiva los ROS/RNS. Sin embargo, los métodos ET no suelen usar especies reactivas biológicamente relevantes tales como los radicales peroxilos, en su lugar usan sondas químicas de detección que cambian de color, fluorescencia o luminiscencia cuando son reducidos por los antioxidantes. Estos métodos ET suelen medir el cambio en absorbancia o fluorescencia es una medida de la concentración total de antioxidantes en una muestra, o capacidad antioxidante total (TAC). La TAC suele ser expresado en términos de un antioxidante de referencia, tales como Trolox (análogo de la vitamina E) para antioxidante hidrofílicos, α -tocoferol para antioxidantes lipofílicos o ácido gálico para extractos ricos en polifenoles.

En general, los ensayos basados en ET tiene buena precisión debido a que la diferencia en la intensidad de absorbancia, fluorescencia o luminiscencia de la sonda de detección original y reducida puede ser directamente medidas. Asimismo, dado que una solo especie reducida es generada a partir de la sonda de detección existe una relación lineal con la concentración total de antioxidantes. Sin embargo, la principal crítica a los métodos ET es que no emplean radicales biológicamente relevantes, aunque ellos simulan condiciones que imitan el medio existente en alimentos y fluidos biológicos tales como el potencial redox (0.6-0.7 V), pH, balance lipofílico/hidrofílico de mezclas de solventes y microemulsiones.

Entre los métodos ET se incluyen el ensayo de Folin-Ciocalteu (FC), poder antioxidante reductor de hierro (FRAP), capacidad antioxidante reductora de cobre (CUPRAC), ABTS/TEAC (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid/capacidad antioxidante Trolox equivalente), DPPH ((2,2-di(4-tert-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl), entre otros (Apak et al., 2016a).

- **Métodos basados en la transferencia de hidrógeno (HAT)**

Estos métodos miden la capacidad de un antioxidante para secuestrar radicales libres (radicales peroxilos, ROO°) mediante la donación de un átomo de hidrógeno. Los radicales peroxilos son generalmente elegidos como especie reactiva debido a su relevancia biológica y su mayor vida media (comparado con radicales hidroxilos y el anión superóxido). La siguiente reacción resume el mecanismo HAT de los antioxidantes:



Donde ArO° es el radical ariloxi formado por la reacción del antioxidante fenólico con radicales peroxilos y AH/ArOH denotan la biomolécula a proteger y los antioxidantes, respectivamente.

Los antioxidantes efectivos son aquellos que reaccionan más rápidamente que las biomoléculas con los radicales para proteger a estos últimos. Estos métodos usan sondas de fluorescencia, donde tanto la sonda y los antioxidantes reaccionan con ROO° (reacción de competición), y la actividad antioxidante se determina a partir de la curva de reducción de fluorescencia en presencia y ausencia del antioxidante (área bajo la curva, AUC). La diferencia entre el AUC de la muestra y el blanco (que no contiene antioxidante) está relacionada con la concentración de antioxidantes en la muestra (**Figura 11**).

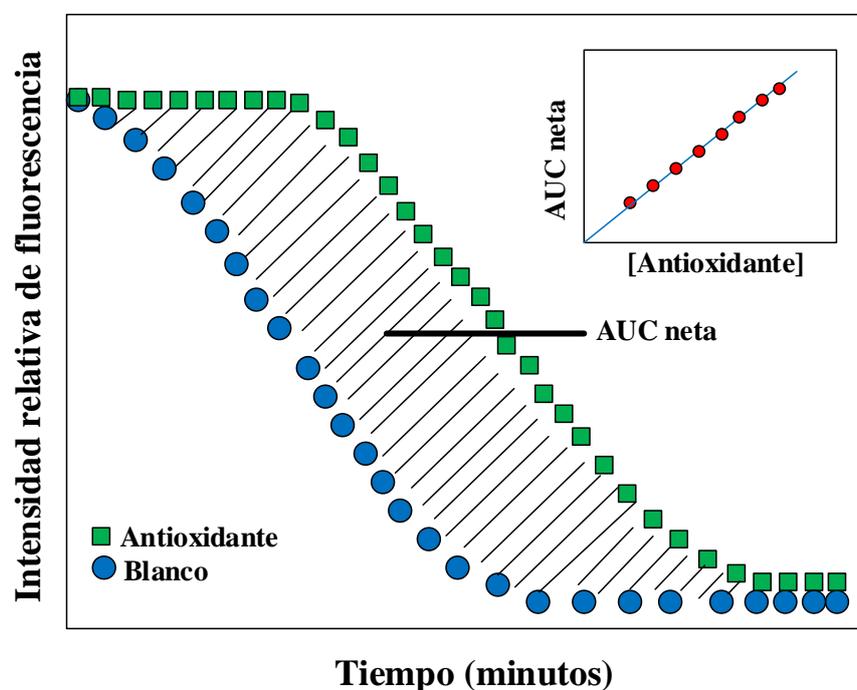


Figura 11. Métodos HAT para medir capacidad antioxidante
Fuente: Adaptado de (Apak, Özyürek, Güçlü, & Çapanoğlu, 2016b)b

La principal crítica de los ensayos competitivos basado en HAT es que la concentración de la sonda de detección (que simula el sustrato biológico) es baja comparado a la de los antioxidantes ensayados, lo cual contradice con la definición básica de antioxidantes; en la vida real, los antioxidantes ejercen su efecto protector estando a concentraciones mas bajas que las del sustrato biológico oxidable.

Entre los métodos HAT se incluyen el ensayo de ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), TRAP (total peroxy radical trapping antioxidant parameter), Blanqueo de crocina, TOSC (total oxyradical scavenging capacity), entre otros (Apak et al., 2016b).

2.2.4. Optimización de bebidas funcionales

2.2.4.1. Definición

Una bebida funcional es un producto no alcohólico que incluye en su formulación ingredientes hierbas, vitaminas, minerales, aminoácidos, frutas o verduras. Los ingredientes proporcionan compuestos bioactivos que dan un valor agregado a las bebidas funcionales en la prevención de enfermedades. En la actualidad existen una amplia gama de bebidas funcionales entre ellas las que ingredientes como el té verde, soya, fibras solubles, colágeno, vitaminas, minerales, entre otros (Aranceta & Gil, 2010)

2.2.4.2. Diseño y optimización

2.2.4.2.1. Definición de la metodología de superficie de respuesta

La metodología de superficie de respuesta (RSM, Response Surface Methodology), introducida por Box y Wilson, es un conjunto de técnicas estadísticas y matemáticas que permite inspeccionar como varía una respuesta (variable dependiente) cuando cambian factores que influyen en la respuesta (variables independientes) (Liyana-Pathirana & Shahidi, 2005). Además de analizar los efectos de las variables independientes, la RSM permite generar un modelo matemático que describe el proceso global (Baş & Boyacı, 2007). El modelo generado permite estimar los valores óptimos para las variables independientes que maximizan o minimizan el valor de la variable respuesta (Preciado, 2003)

La RSM es útil para desarrollar, y mejorar procesos en los que una respuesta de interés a optimizar es influenciada por diversas variables independientes (Myers, Montgomery, & Anderson-Cook, 2002). Además, la RSM tiene una aplicación importante en el diseño, el desarrollo y la formulación de nuevos productos, así como en el mejoramiento del diseño de un producto existente. Así, la RSM ha sido utilizada con éxito para modelar y optimizar procesos bioquímicos y biotecnológicos relacionados con los sistemas alimentarios.

2.2.4.2.2. Etapas de la optimización mediante el Método de Superficie de Respuesta (MSR)

Ayala y Pardo (1995) mencionan tres etapas fundamentales: screening o cribado, escalamiento y optimización final.

Etapa I: Screening o cribado

Al inicio de un proceso de optimización, cuando todavía no se tiene un buen conocimiento del comportamiento del proceso o producto, generalmente la lista de factores o variables que puedan influir en el proceso son muchas, por lo que es necesario identificar las más relevantes. En esta etapa, los diseños de primer orden son los más recomendados, siendo el diseño factorial el más utilizado, especialmente los diseños factorial 2^k y factorial fraccionado (ecuación 1) (Ayala y Pardo, 1995) (Montgomery, 1991)

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_k x_k + \varepsilon \quad (1)$$

Donde: ε representa el ruido o error observado en la respuesta “y”

Etapa II: Escalamiento

Si la región óptima se encuentra lejos de los experimentos iniciales (Etapa I: screening), como en el caso de las condiciones de operación de la Figura 12, se inicia una segunda etapa de optimización denominada escalamiento (Ayala y Pardo, 1995). Esta etapa consiste en escalar sucesivamente hacia la región óptima hasta llegar a ubicarla. Existen varios métodos entre los cuales destacan el método de pendientes ascendentes o descendentes y el método de búsqueda simple (Simplex Search). Estos métodos permitirán acercarse a la denominada “región experimental de respuestas estacionarias”, es decir, a una zona en la cual ya no es posible mejorar las respuestas por las técnicas mencionadas. En esta situación los efectos cuadráticos

toman importancia y es necesario el uso de los modelos de segundo orden para describir dicha región (Ayala y Pardo, 1995).

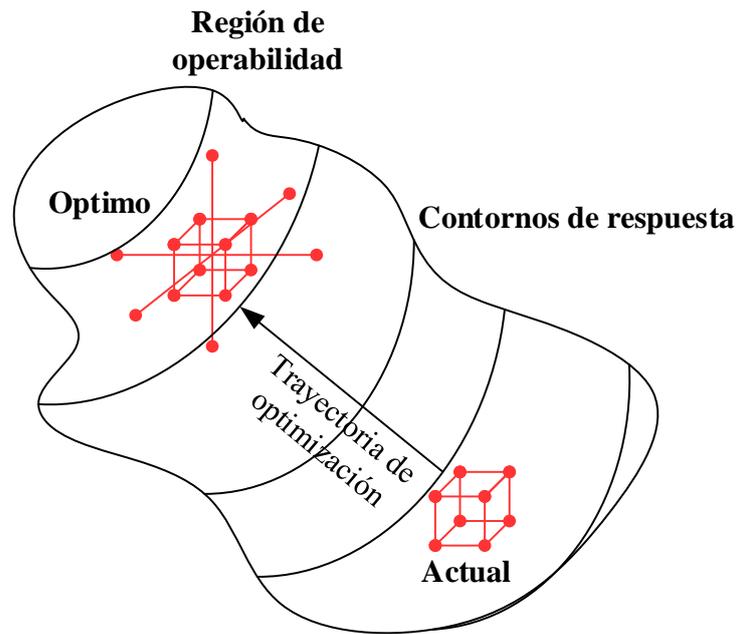


Figura 12. Carácter secuencial de la RSM.
Fuente: Adaptado de (Montgomery, 1991)

Etapa III: Optimización final

En la región experimental que encierra el óptimo, los efectos de segundo orden son mayores en valores absolutos a los efectos de primer orden, lo que indica que esta región puede ser descrita apropiadamente mediante modelos matemáticos de segundo orden (ecuación 2).

$$Y = b_0 + \sum_{j=1}^k b_j X_j + \sum_{u,j=1}^k b_{uj} X_u X_j + \sum_{j=1}^k b_{jj} X_j^2 \quad u \neq j \quad (2)$$

Una vez definido el modelo matemático que represente satisfactoriamente la región óptima, se procede a optimizar dicho modelo, es decir, hallar los valores óptimos de las variables independientes X que maximicen o minimicen la respuesta (Ayala y Pardo, 1995).

La ecuación cuadrática se representa como una superficie respuesta (**Figura 13**). La superficie de respuesta se define como la representación geométrica de la función objetivo (relación entre la variable dependiente y las independientes consideradas en la investigación) o más propiamente dicho del modelo cuadrático matemático obtenido (Ayala & Pardo, 1995). La Figura 13 también incluye diferentes curvas de nivel llamadas contorno, los cuales corresponden a una altura particular de la superficie de respuesta (Kuehl, 2001; Montgomery, 2002).

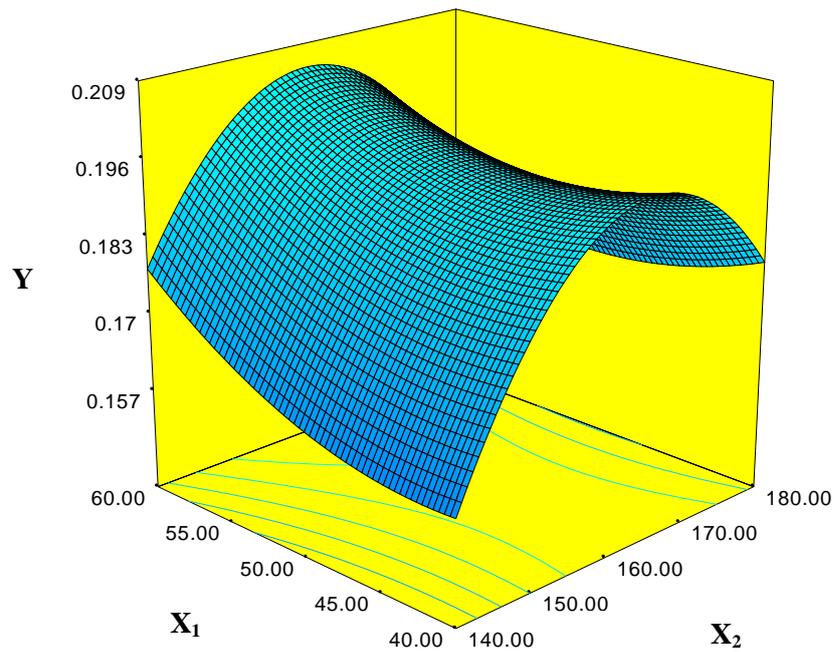


Figura 13. Superficie de respuesta cuadrática y gráficas de contorno.

Fuente:(Kuehl, 2000)

2.2.4.3. Diseño de productos y formulación: experimentos con mezclas

Según (Myers et al., 2002), un experimento de mezcla es un tipo especial de experimento de superficie de respuesta en el cual los factores son ingredientes o componentes, y que por tanto la respuesta es una función de la proporción de cada ingrediente. Las cantidades proporcionales de cada ingrediente son típicamente medidas en peso, volumen, moles, etc. en general, se supone que la mezcla consiste de n ingredientes o componente, y que x_i representa la proporción del ingrediente i en la mezcla. Así se tiene:

$$x_i \geq 0, i = 1, 2, \dots, n$$

$$\sum_{i=1}^n x_i = 1$$

Los experimentos de mezclas tienen diversas aplicaciones en diferentes áreas de investigación. La aplicación más común es en la formulación de productos, en los cuales los mismos están formados por la mezcla de varios ingredientes. Entre otras aplicaciones ejemplos, la formulación de tortas y bebidas son las más representativas en la industria de alimentos. Así tenemos los diferentes tipos de diseño:

I. Diseño Simplex Lattice

Este diseño aplica un conjunto de puntos uniformemente espaciados en un simplex (**Figura 14**). Así un diseño simplex lattice A (n, m) para n componentes consiste de puntos definidos por:

$$x_i = 0, \quad \frac{1}{m}, \quad \frac{2}{m}, \dots, 1; i = 1, 2, \dots, q$$

Donde la proporción tomada por cada componente son m+1 valores igualmente espaciados desde 0 a 1.

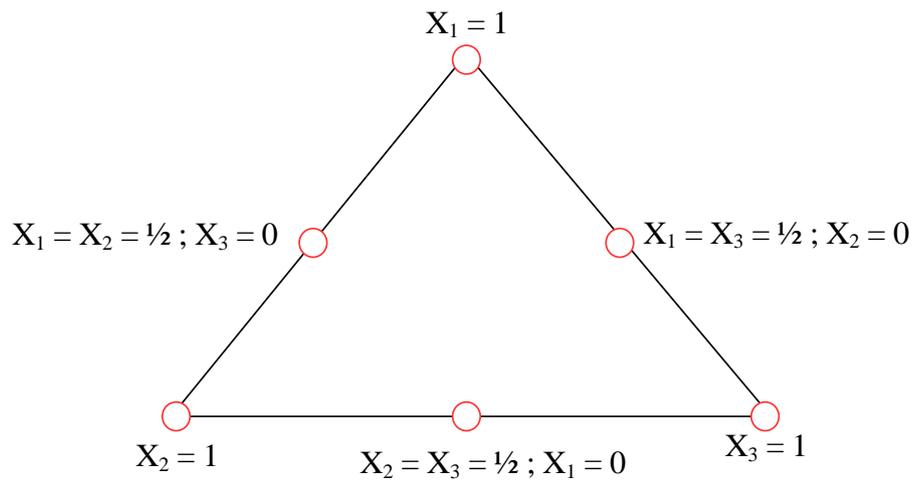


Figura 14. Diseño Simplex Lattice A (3,2) para experimentos de mezclas.
Fuente: (Myers et al., 2002)

II. Diseño Simplex-Centroide

En este diseño los puntos experimentales son las n permutaciones de $(1,0,0,\dots,0)$ o mezclas de componentes simples, las $n/2$ permutaciones de $(1/2,1/2,0,\dots,0)$ o todas las mezclas binarias, las $n/3$ permutaciones de $(1/3,1/3,1/3,0,\dots,0)$, etc, y el centroide global $(1/q, 1/q,\dots, 1/q)$. Este diseño soporta modelos polinomiales cúbicos para $n=3$ y un cúbicos especiales para $n = 4$. **(Figura 15).**

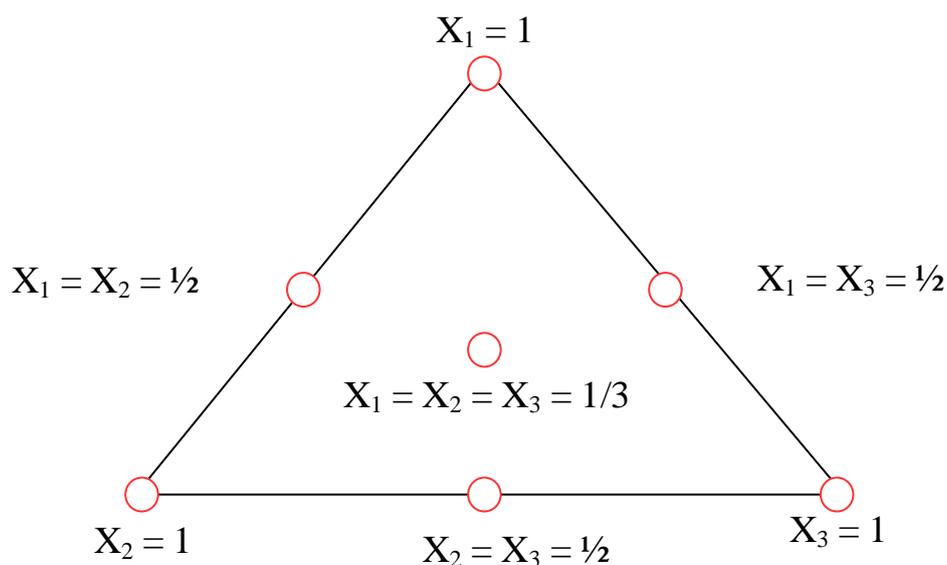


Figura 15. Diseño Simplex-Centroides $n = 3$ para experimentos de mezclas.

2.2.5. Estabilidad en almacenamiento de la bebida funcional óptima

2.2.5.1. Estabilidad de compuestos bioactivos

2.2.5.1.1. Ácido ascórbico

La degradación del ácido ascórbico ocurre a través de dos principales mecanismos (Figura 16). La primera es conocida como la ruta aeróbica, en la cual el ácido L-ascórbico es oxidado a ácido deshidroascórbico (DHA) que es posteriormente degradado por diferentes vías. La segunda es la denominada ruta anaeróbica, en la que el ácido ascórbico es degradado sin oxidación previa, por tanto, DHA no se forma como producto intermedio de degradación. Ambos mecanismos de degradación ocurren simultáneamente a diferentes velocidades (Peleg, Normand, Dixon, & Goulette, 2018).

El ácido ascórbico (I) es rápida y reversiblemente oxidado a ácido deshidroascórbico (II), el cual está presente en medios acuosos como hemicetal hidratado (IV). La actividad biológica de II es posiblemente más reducida que I, y es completamente perdida cuando el anillo lactona del ácido deshidroascórbico se abre irreversiblemente convirtiéndose II en ácido 2,3-dicetogulónico (III). Este último compuesto es muy inestable y es rápidamente degradado en números productos entre ellos 3-hydroxi-2-pirona y ácido 2-furoico (Gómez Ruiz, Roux, Courtois, & Bonazzi, 2018). La oxidación de I a II y sus posteriores productos de degradación depende de un numero de factores tales como la presión parcial de oxígeno, pH, temperatura y la presencia de metales pesados (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2009).

La oxidación del ácido ascórbico (I) al compuesto II afectará de manera significativa la estabilidad de la vitamina C en jugo de frutas. Consecuentemente, la concentración de oxígeno disuelto e indirectamente el material de empackado tiene un impacto crucial en la estabilidad de la vitamina C de alimentos líquidos. Así, la estabilidad de la vitamina C en jugo de frutas envasadas en botellas es mayor que la de aquellas empacadas en envases de polímeros tales como polietileno y poliestireno debido a la mayor permeabilidad al oxígeno de estos materiales (Van Bree et al., 2012). El contenido de ácido ascórbico en alimentos también puede ser afectado por altas temperaturas y la humedad de la fruta (Mditshwa, Magwaza, Tesfay, & Opara, 2017), el oxígeno, la luz, la presión, los iones metálicos, los azúcares reductores y el pH (Ordóñez-Santos & Yoshioka-Tamayo, 2012).

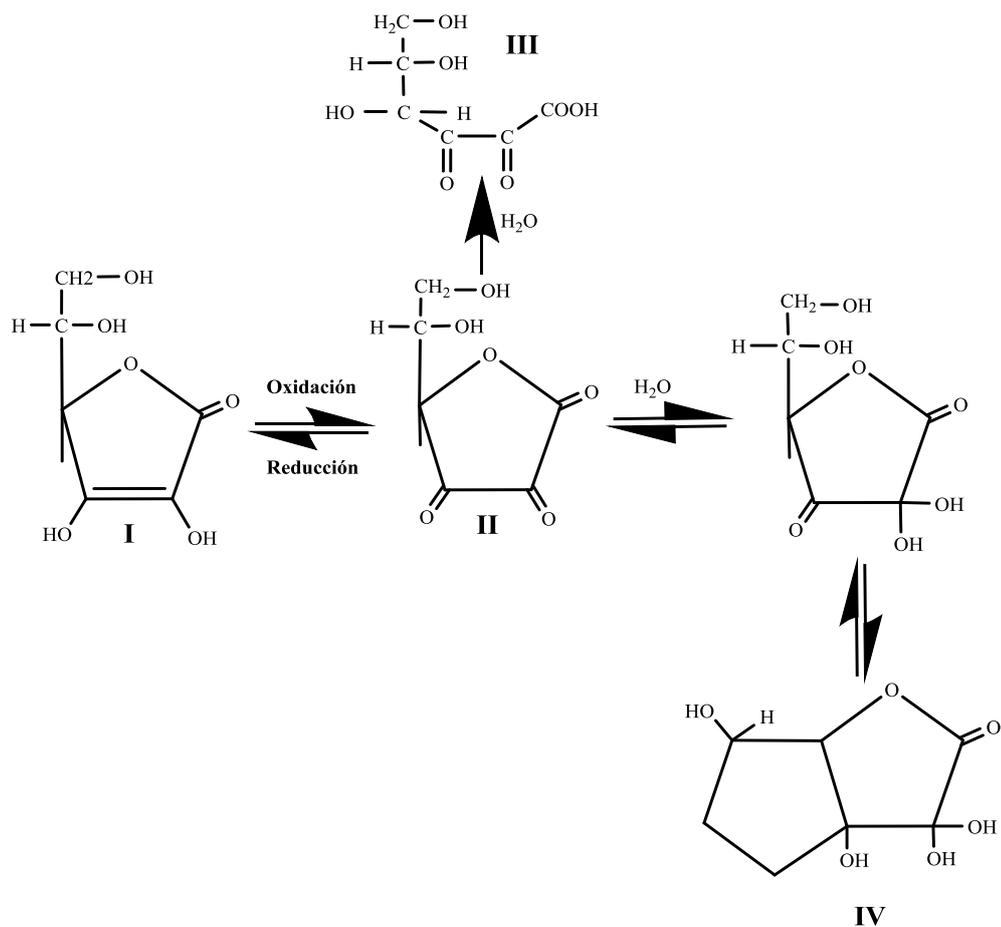


Figura 16. Mecanismo de degradación oxidativa del ácido ascórbico.

Fuente: (Belitz et al., 2009)

La velocidad anaeróbica de degradación (**Figura 17**), el cual es sustancialmente más lento que la oxidación no catalizada, es máxima a pH = 4 y mínima a pH = 2. Probablemente procede a través de cetoforma del ascorbato y luego vía un cetoanión a ácido dicetogulónico. Este último producto de degradación es posteriormente convertido a etilgloxal, reductonas, furfural y ácido furancarboxílico (Belitz et al., 2009).

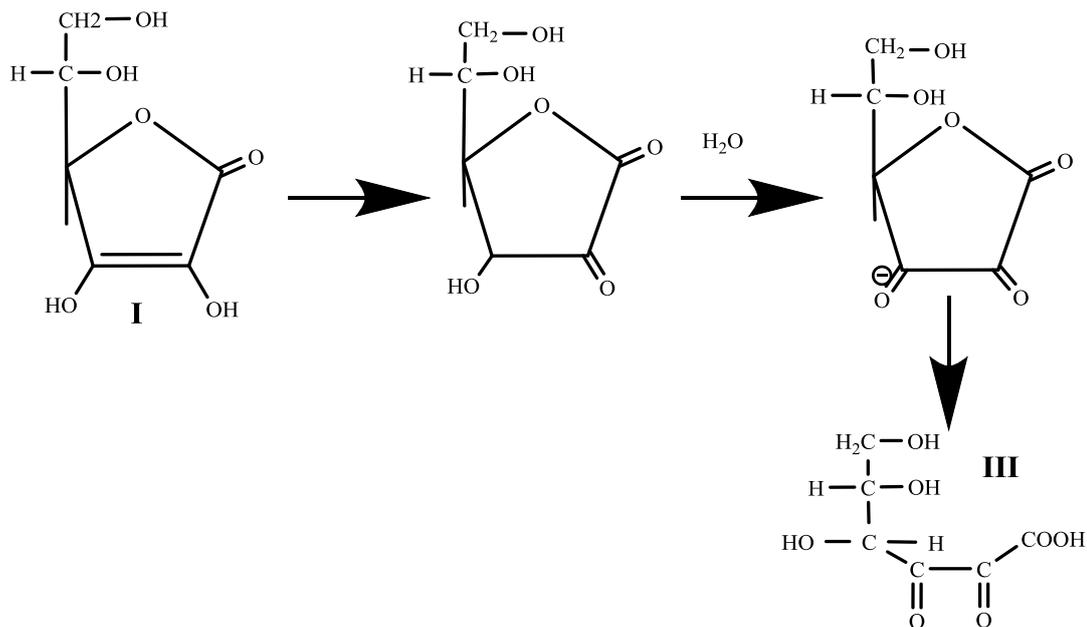


Figura 17. Mecanismo de degradación anaeróbica de ácido ascórbico.

Fuente: Adaptado de (Belitz et al., 2009)

Finalmente, en presencia de aminoácidos, el ácido ascórbico, el ácido deshidroascórbico y sus productos de degradación podrían posteriormente participar en reacciones de pardeamiento tipo Maillard (Belitz et al., 2009).

2.2.5.1.2. Carotenoides

Los pigmentos carotenoides son compuestos responsables de la coloración de un gran número de alimentos vegetales y animales. Numerosos estudios han demostrado los efectos beneficiosos de estos compuestos en la salud humana; por lo que, desde un punto de vista nutricional, resulta de gran importancia conocer los factores que intervienen en la degradación

de carotenoides, ya que además de la pérdida de color, conlleva a una disminución de su valor nutritivo.

La inestabilidad de carotenoides se debe al hecho de que son compuestos altamente insaturados, degradándose fundamentalmente debido a procesos oxidativos. Así mismo, factores como la luz, temperatura o el pH del alimento pueden producir cambios cualitativos en los carotenoides debido a reacciones de isomerización (Meléndez Martínez, Vicario Romero, & Heredia, 2004).

Las reacciones de oxidación degradan a los carotenoides, mediante procesos no enzimáticas o a través de enzimas como las lipoxigenasas, y ocurre generalmente durante el secado de frutas y vegetales (Meléndez Martínez et al., 2004). Sin embargo, la interacción de los carotenoides con otros constituyentes de los alimentos puede ejercer un efecto protector contra dichas reacciones, de tal forma que se oxidan más rápidamente cuando se extraen del fruto o se purifican. Al igual que con los lípidos, la oxidación de los carotenoides se acelera por la temperatura, la presencia de metales, luz y enzimas y se reduce por la adición de antioxidantes. Aunque los alimentos que contienen antioxidantes tales como tocoferoles o vitamina C, los carotenoides son más estables (Meléndez Martínez et al., 2004).

El mecanismo de oxidación de los carotenoides, a diferencia del de los lípidos, no está totalmente claro. Al parecer estos procesos oxidativos implican reacciones de epoxidación, formación de apo-carotenoides (carotenoides de menos de 40 átomos de carbono) e hidroxilación, obteniéndose finalmente compuestos de bajo peso molecular similares a los que aparecen como consecuencia de la oxidación de ácidos grasos (Meléndez Martínez et al., 2004).

2.2.5.2. Estabilidad microbiológica

El progreso tecnológico en las últimas décadas y los cambios en los estilos de vida de los consumidores han generado que la industria de alimentos deba hacer un frente a un contradictorio mercado. Los consumidores demandan productos alimentarios superiores en calidad sensorial, funcionalidad y propiedades sensoriales, combinado con la tradicional imagen y seguridad microbiológica. Sin embargo, también existe la demanda de alimentos procesados con menos severidad, menos aditivos e intervenciones tecnológicas. Es decir, el consumidor espera productos con vida útil mayor, esto es la inhibición o control del deterioro principalmente microbiológico y que sea de fácil preparación y uso (Kilcast & Subramaniam, 2011).

La preservación de alimentos se define como el proceso de tratamiento y manejo de alimentos que buscan detener, control o reducir significativamente su deterioro manteniendo el óptimo valor nutricional, textural y sabor. La aplicación de la temperatura es el principal método usado en la industria de alimentos para prevenir su deterioro. El uso de bajas

temperaturas, congelación (-18°C) o enfriado ($< 8^{\circ}\text{C}$) permiten extender la vida útil de los alimentos mediante el control del deterioro microbiológico en el primer caso. Los tratamientos térmicos para estabilizar los alimentos pueden ser: 1) Pasteurización para inactivar microorganismos vegetativos, ello implica el tratamiento a 70°C x 2 min o equivalente ($z = 7,5^{\circ}\text{C}$), 2) Pasteurización para inactivar psicrotróficos o microorganismo formadoras de esporas tolerantes al ácido.

Este proceso aplica comúnmente 90°C x 10 min o equivalente ($z = 9,0^{\circ}\text{C}$) y 3) Esterilización para alcanzar un producto alimentario envasado esterilizado, este proceso equivale a la aplicación de $121,1^{\circ}\text{C}$ x 3 min para alcanzar una reducción de 12-Log de *Clostridium botulinum* y la inactivación de todos los microorganismos vegetativos y la mayoría de microorganismos formadores de esporas (Kilcast & Subramaniam, 2011).

Los factores que afectan la estabilidad y vida útil de jugos de frutas pueden ser dividido en tres áreas principales: microbiológicas, física y químicas. Los jugos de frutas son particularmente susceptibles al deterioro microbiano y en ciertas circunstancias podrían crecer microorganismos patógenos. En este contexto, las etapas críticas en las operaciones de procesamiento de frutas son: a) lavado para reducir la carga microbiana, b) obtención de la pulpa y separación del jugo, c) pasteurización para desactivar y destruir microorganismos, y d) envasado en contenedores apropiados, almacenado o distribución. En relación a la pasteurización, suele ser usado en productos alimentarios con $\text{pH} \leq 4,5$ -como los jugos de frutas, donde las condiciones acidas efectivamente reduce el riesgo de crecimiento de

organismos patógenos. Aunque algunos microorganismos patógenos como *E. coli* O157 pueden crecer en condiciones ácidas (Kilcast & Subramaniam, 2011).

2.3. Aspectos de responsabilidad social y medio ambiental

La Responsabilidad Social (RS), es un deber ético de internalizar las externalidades, una obligación moral y epistemológica de ya no limitar la problemática de la gestión organizacional a la mera administración de los procesos internos. También hay que considerar los impactos colaterales internos y externos de dicha gestión, para la sostenibilidad tanto de la organización como de su entorno, sabiendo la gran dificultad que significa en cuanto a la posibilidad de diagnosticar y medir dichos impactos, para poder gerenciarlos de verdad (lo que no se mide, difícilmente se puede mejorar) Vallaey (2008).

Herrera & Abreu (2008), reporta que la responsabilidad social es básicamente un proceso de reflexión ética, el cual implica las nociones de los fines mismos de la existencia social y enfatiza la realidad social de las organizaciones, que las orienta hacia mejorar la calidad de vida de la sociedad. La palabra “responsabilidad” indica la acción de responder por los resultados de las propias decisiones y acciones; la palabra “social” recuerda que esas decisiones y acciones afectan a otros. Sin embargo, pese a que los enfoques que se han dado a la RS en los últimos años parten de bases comunes, estos no pueden ser iguales para todos los países ya que cada nación posee un contexto social único y diferente al de cualquier otro país, dando como resultado que la definición o enfoque de RS que funciona para un país debido a las características propias del mismo pueda no ser la más efectiva ni apropiada para otro país.

Según Pérez, Espinoza, Cacibel, & Peralta (2016). La RS está asociado a los cambios continuos del mercado, de los consumidores, la contaminación, la escasez de recursos y materias primas que favorecen la búsqueda de nuevas maneras para preservar conservar y aprovechar los recursos, lo que actualmente tienen las empresas en la realización de sus operaciones comerciales. La responsabilidad social también exige de los empresarios una capacidad de adaptación y flexibilidad impresionante al propiciar nuevas estrategias comerciales y de producción en pro del mundo y la preservación del mismo.

La definición de una política de gestión ambiental con objetivos estratégicos claramente definidos, apoyados activamente por la sociedad, sustentada en un marco jurídico sólido, consistente e integrado que impulse el involucramiento de las empresas y la internalización de los costos de la contaminación, con la debida atribución de responsabilidades y asignación de recursos, crear las condiciones para que fructifique una cultura empresarial que fomente un comportamiento ambientalmente responsable. La madurez de este marco institucional permite superar la incidencia de factores tales como los altos costos de las tecnologías limpias, la falta de información o formación y los riesgos asociados a los cambios. Existe, entonces, una alta relación entre la madurez de las políticas públicas y el aprendizaje organizacional, que da lugar a empresas ambientalmente más responsables. Milan & Villarroel (2009)

CAPITULO III

MÉTODO

3.1 Tipo de investigación

La presente tesis doctoral busca dar respuestas a un problema circunstancial de optimización de una bebida funcional antioxidante y estudiar su estabilidad en almacenamiento; por lo tanto, está focalizado en la aplicación inmediata sobre una realidad circunstancial antes que el desarrollo de un conocimiento de valor universal (Sánchez y Reyes, 2002).

El nivel de investigación tiene enfoque cuantitativo, aplicado e inductivo. (Sampieri, Fernández y Baptista, 2010), y busca dar respuesta a cuál es la proporción adecuada de los ingredientes que componen la bebida funcional antioxidante óptima y cuál es su estabilidad microbiológica y funcional bajo condiciones aceleradas de almacenamiento.

3.2. Población y muestra

La población hace referencia a las frutas de mango (*Mangifera indica L.*), noni (*Morinda citrifolia*) y aguaymanto (*Physalis peruviana L*) proveniente de la Asociaciones de Productores del Distrito de Barranca, Provincia y Departamento de Lima, en cajas plásticas de aproximadamente 5 kg en total cada uno.

Las muestras en estudio fueron seleccionadas aleatoriamente de acuerdo a los tratamientos con sus respectivas repeticiones y para todo el periodo de evaluación se trabajó con un total de aproximadamente de 20 kg de fruta. Las muestras fueron tomadas del centro de acopio del mercado de Barranca. Las frutas de mango noni y aguaymanto se tomaron en cantidad suficiente para evaluar el efecto de los tratamientos con sus respectivas repeticiones.

3.3. Hipótesis

3.3.1. Para el diseño y optimización de la bebida funcional mixta con capacidad antioxidante

Hipótesis nula

H₀: Las bebidas funcionales mixta con capacidad antioxidante no se pueden diseñar ni optimizar

$$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = \tau_4 = 0$$

Hipótesis alternativa

H₁: Las bebidas funcionales mixta con capacidad antioxidante se pueden diseñar y optimizar

$$H_1: \text{al menos un } \tau_i \neq 0$$

3.3.2. Para la determinación de los compuestos antioxidantes y la capacidad antioxidante de las pulpas de mango, noni y aguaymanto.

Hipótesis nula

H₀: Las pulpas de mango, aguaymanto y noni no tienen compuestos antioxidantes y no tienen capacidad antioxidante

$$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = \tau_4 = 0$$

Hipótesis alternativa

H₁: Las pulpas de mango, aguaymanto y noni tienen compuestos antioxidantes y tienen capacidad antioxidante.

$$H_1: \text{al menos un } \tau_i \neq 0$$

3.3.3. Para la optimización de proporción de las pulpas de mango, noni aguaymanto para obtener una bebida funcional maximizando la capacidad antioxidante y sus atributos sensoriales.

Hipótesis nula

H₀: La optimización de proporción de pulpas de mango, aguaymanto y noni no tienen influencia en la bebida funcional para maximizar la capacidad antioxidante y sus atributos sensoriales.

$$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = \tau_4 = 0$$

Hipótesis alternativa

H₁: La optimización de proporción de pulpas de mango, aguaymanto y noni tienen influencia en la bebida funcional para maximizar la capacidad antioxidante y sus atributos sensoriales.

$$H_1: \text{al menos un } \tau_i \neq 0$$

3.3.4. Para la evaluación de la estabilidad de la bebida funcional antioxidante óptima en condiciones aceleradas de almacenamiento

Hipótesis nula

H₀: La bebida funcional antioxidante óptima no es estable en condiciones aceleradas de almacenamiento.

$$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = \tau_4 = 0$$

Hipótesis alternativa

H₁: La bebida funcional antioxidante óptima es estable en condiciones aceleradas de almacenamiento.

$$H_1: \text{al menos un } \tau_i \neq 0$$

3.4.Operacionalización de variables

3.4.1. Independientes

- Proporción de pulpa de mango (porcentaje).
- Proporción de pulpa de noni (porcentaje).
- Proporción de pulpa de aguaymanto (porcentaje)
- Temperatura de almacenamiento
- Tiempo de almacenamiento

3.4.2. Dependientes

- Capacidad antioxidante
- Contenido de polifenoles totales
- Contenido de carotenoides totales
- Atributos sensoriales
- Contenido de ácido ascórbico
- Mohos y levaduras y bacterias mesófilas

3.5. Instrumentos

Para el registro o almacenamiento de datos se utilizaron cuaderno de laboratorio, cámara fotográfica y de video, discos duros externos y memorias USB, entre otros.

3.5.1. Equipos

- Balanza analítica Ohaus® Adventurer, modelo AR3130, cap. Max. 310 g, resolución 0,0001 g.
- Balanza digital Ohaus® Scout Pro, modelo SP601, cap. Max. 600 g, resolución 0,1 g.
- Balanza de humedad por infrarrojo Radwag, PMC50.
- Baño maría Gemmy-YCM-010E.
- Cabina de Flujo laminar.
- Centrifuga Heltich ® Zentrifugen, modelo EBA 200S, 500 – 6000 rpm.
- Centrifuga MPW-251-MPW MED. INSTRUMENTS.
- Estufa eléctrica Binder®, modelo FED 53, rango de trabajo 25 - 300 °C.
- Espectrofotómetro UV/VIS Unico®, modelo 2100, rango de onda 200 – 1000 nm, resolución ± 1 nm.
- Espectrofotómetro JENWAY 6850.
- Espectrofotómetro UV/VIS/NIR, Lambda 1050 Perkin Elmer.
- Estufa-esterilizadora con aire forzado de 54 L.
- Homogenizador Wizard & Classic Velp®, modelo VL-F202A0175, velocidad max. 3000 rpm, movimiento orbital.
- Horno esterilizador Heating Drying Oven –ODHG-9070B.
- Lector Microplacas Multimodal Synergy HTX-BIOTEK.
- Licuadora industrial Electromaster-LAR-15MB.
- Medidor portátil de pH, HI-2211 Hanna Instruments.

- Potenciómetro Schott ® Instruments, modelo Handylab pH 11, rango - 2.000 a 19.999 pH, resolución 0,001 pH.
- Refrigeradora, Marca Electrolux con control automático de temperatura.
- Refractómetro digital para contenido de azúcar HI 96801, Hanna.
- Titulador-bureta digital.
- Viscosímetro digital.
- Vortex Mixer, VM-300.

3.5.2. Materiales

- Botellas de vidrio de 260 mL.
- Bureta de 25 mL.
- Cubetas de espectrofotómetro: plástico y cuarzo
- Cronómetro
- Embudos
- Fiolas de 10, 25, 50, 100 y 250 mL.
- Gradillas
- Matraz erlenmeyer de 125, 250 mL
- Micropipetas: 5 – 20 μL (Gilson), 5-50 μL (Wheaton), 100-1000 μL (Hirschmann Laborgerate).
- Papel filtro
- Papel de aluminio
- Perilla para pipetas

- Puntas para micropipetas de 10, 100 y 1000 μL .
- Tapas para botellas
- Termómetro digital

- Tubos de ensayo
- Tubos de centrifuga de 14 ml (Falcon)
- Vasos precipitados de 100ml, 250 mL.
- Vernier digital

3.5.3. Reactivos

- Acido gálico (Merck)
- Acetona Absoluto (Merck)
- Acido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico (Trolox) (Merck)
- Carbonato de sodio 7.5% (Merck)
- 2,2-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (Merck)
- Etanol absoluto (Merck)
- Hidróxido de sodio (Merck)
- Metanol absoluto (Merck)
- Reactivo de Folin-Ciocalteu (Merck)
- Tiras reactivas MQuant para medir ácido ascórbico (Merck)
- Otros especificados en los métodos de análisis

3.5.4. Técnica documental o bibliográfica

- Análisis documental: Se seleccionó el material bibliográfico de las bases de datos científicas.
- Preparación de base de datos: Se preparó la base de datos electrónica para el desarrollo del marco teórico, métodos y discusión de la investigación.
- Análisis de contenido: Se analizó de manera objetiva y sistemática los documentos seleccionados.

3.6. Procedimientos

3.6.1. Diseño de la investigación

En la presente tesis doctoral se utilizó el diseño de investigación de experimentos puros; es decir, en las distintas etapas de ejecución se manipularon las variables independientes a fin de evaluar sus efectos sobre variables dependientes (Sampieri et al.,

2010). El diseño de las etapas experimentales de investigación se reporta en la **Figura 18** y comprendió las siguientes etapas:

- I. Caracterización de la materia prima
- II. Optimización de la bebida funcional antioxidante
- III. Estabilidad en almacenamiento de la bebida funcional optima

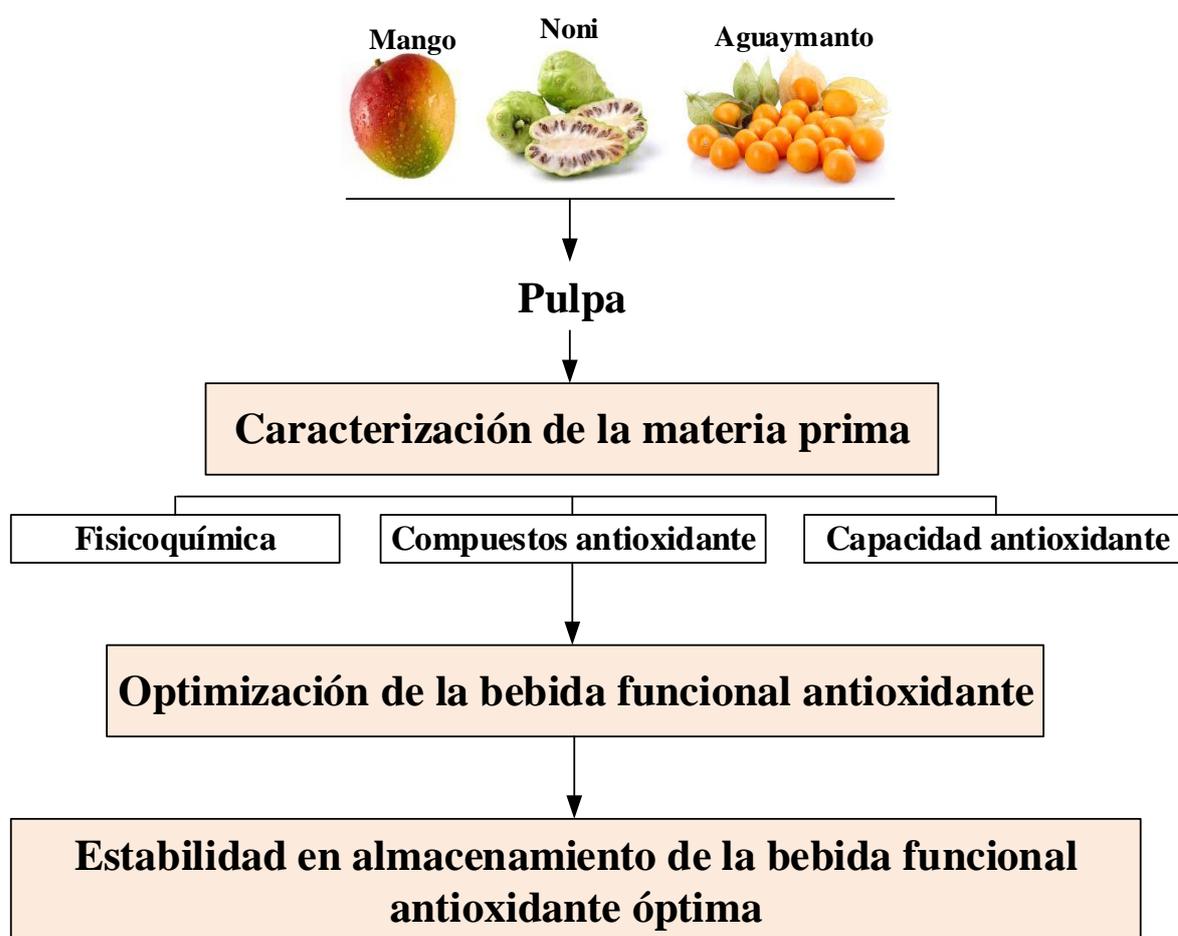


Figura 18. Etapas experimentales de la investigación

3.6.2. Caracterización fisicoquímica de la materia prima

Sólidos solubles totales (°Brix)

El contenido de sólidos de solubles de las pulpas se midió por triplicado usando un refractómetro de acuerdo al método AOAC 983.17 (AOAC., 2005)

pH

El pH de las pulpas se midió empleando un potenciómetro siguiendo el método de la AOAC 981.12 (AOAC., 2005)

Acidez total

Se midió por titulación directa empleando un titulador automático siguiendo el procedimiento descrito por la AOAC 30.07.1 (AOAC., 2005). La acidez se expresó en % de ácido cítrico.

Humedad

Se midió empleando una balanza de humedad con calentamiento infrarrojo programado a 105 °C. La humedad se expresó en g/100g de muestra.

3.6.3. Compuestos antioxidantes

3.6.3.1. Polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales se midió mediante el método de Folin-Ciocalteu adaptado a un lector de placa multipocillos (F. Abderrahim, Arribas, Gonzalez, & Condezo-Hoyos, 2013). La muestra diluida o estándar de ácido gálico (50 µL) se mezcló con un volumen igual del reactivo de Folin-Ciocalteu (1:20) en un vórtex durante 2 minutos. Seguidamente se adicionó 100 µL de una solución de hidróxido de sodio (0,3 M) y se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 10 minutos. La absorbancia a 760 nm se midió en un

lector de placa multipocillos Synergy HTX. El contenido de polifenoles totales se expresó en mg ácido gálico equivalente/100 g muestra calculado de una curva de calibración de 0-25 mg/L de ácido gálico.

3.6.3.2. Carotenoides totales

De 0.5-1.0 g de pulpa de fruta se extrajo con 5 mL de acetona en un agitador magnético a la máxima velocidad x 20 minutos (temperatura ambiente). Inmediatamente después la mezcla se centrifugó a 3000 rpm x 5 minutos y el sobrenadante conteniendo los carotenoides extraídos se transfirió a una cubeta de vidrio y se registraron las curvas de espectro de absorción en un espectrofotómetro UV/Vis Lambda 1050 desde 350 nm a 700 nm a intervalos de 1 nm. El espectro se deconvolucionó empleando el procedimiento residual I para separar los picos detectados usando una línea base lineal, asimismo se utilizó el método de Savitzky-Golay para suavizar los datos y el modelo de amplitud de Gauss para estimar las absorbancias. El contenido de carotenoides se calculó utilizando la ecuación (2) (Biehler, Mayer, Hoffmann, Krause, & Bohn, 2010) y se expresó en mg/100 g de muestra. Los coeficientes de extinción de los principales carotenoides presentes en frutas y hortalizas se muestran en la Tabla 7.

$$C \left(\text{mol/L} \right) = \left[\frac{A_{450 \text{ nm}}}{\epsilon b} \right] FD \quad (2)$$

Donde:

C: Concentración de carotenoides (mol/ L).

A₄₅₀: Absorbancia máxima media.

FD: Factor de dilución.

b: Es el paso óptico de la cubeta (cm).

ϵ : Coeficiente de absorción molar (L /mol x cm)

Tabla 7

Longitud de onda de máxima absorción ($\lambda_{m\acute{a}x}$), longitud de onda de máxima absorción en acetona (λ_{ad}), coeficiente de absorción molecular (ϵ) y peso molecular (M) de los principales carotenoides presentes en frutas y hortalizas.

Compuesto	Solvente	$\lambda_{m\acute{a}x}$ (nm)	λ_{ad} (nm)	ϵ (L/mol)	M (g/mol)
β -Caroteno	Acetona	452	452	140663	537
β -Criptoxantina	Éter de petróleo	449	453	131915	553
Luteina	Etanol	445	448	144900	545
Licopeno	Acetona	448	448	120600	537
Zeaxantina	Acetona	452	452	133118	569
	Media	449	450.2	135310	548
	SD	27.0	19.0	7979	14
	RSD [%]	6.0	5.0	59.0	26.0

Fuente: Biehler, Mayer, Hoffmann, Krause, & Bohn (2010).

3.6.3.3. Ácido ascórbico

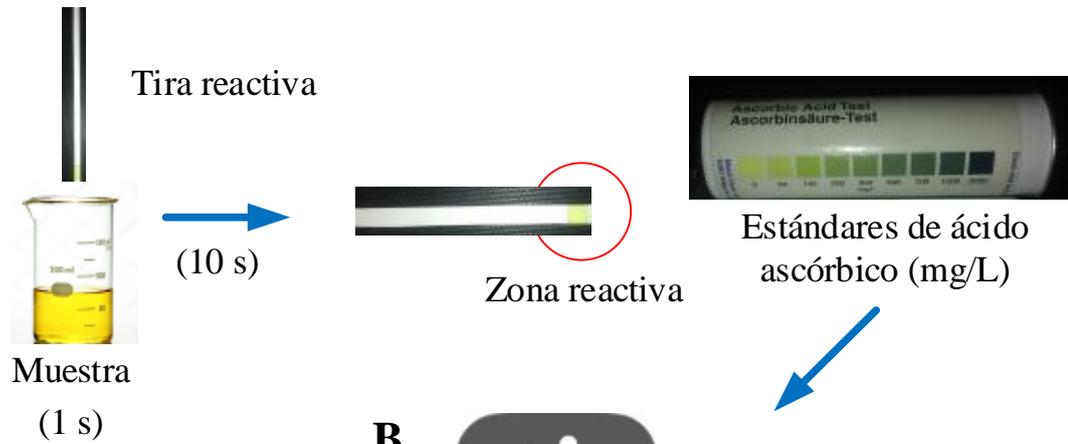
El contenido de ácido ascórbico se midió empleando una tira reactiva MQuant (Merck). El método está basado en la reacción de reducción del ácido molibdofosfórico en presencia de ácido ascórbico, la que se traduce en un cambio de color de amarillo a azul. El

protocolo de determinación es sencillo, se coloca la tira reactiva en la muestra (5-30 °C) durante 1 s, se elimina el exceso de líquido de la tira sacudiéndola y, después de 10 s, se compara el color el color de la zona de reacción con los estándares de ácido ascórbico para estimar visualmente la concentración de ácido ascórbico de la muestra (**Figura 19A**). A efectos de emplear la tira reactiva en el análisis cuantitativo de ácido ascórbico, en la presente tesis doctoral se implementó un procedimiento de análisis de imagen. Para ello, la imagen de la tira reactiva después de su reacción con la muestra y la de los estándares simultáneamente se adquirieron con un celular y se analizaron empleando una aplicación gratuita Color Grab para determinar los valores HSV de color (M. Abderrahim, M. Arribas, & Condezo-Hoyos, 2016). A partir de estos valores se construyó una curva de calibración basado en la distancia de Euclides (ecuación 3) (**Figura 19B**).

$$ED = \sqrt{(H_m - H_b)^2 + (S_m - S_b)^2 + (V_m - V_b)^2} \quad (3)$$

Donde: H_m , S_m and V_m = Promedio de H, S y V de los estándares de ácido ascórbico o muestras y H_b , S_b y V_b = promedio de H, S, y V del blanco (0 mg/L de ácido ascórbico).

A



B

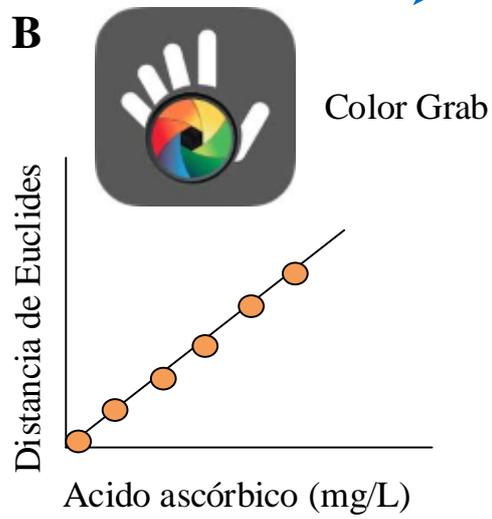


Figura 19. Protocolo esquemático para la cuantificación de ácido ascórbico empleando una tira reactiva MQuant (Merck) y análisis de imagen con Color Grab.

3.6.4. Capacidad antioxidante

3.6.4.1. Preparación de las muestras

Las pulpas se diluyeron apropiadamente (factor de dilución igual a 80, 40 y 200 para pulpa de mango, aguaymanto y noni, respectivamente) y se centrifugaron a 10000 g x 2 min a 4°C. El sobrenadante obtenido se empleó para medir la capacidad antioxidante de acuerdo al protocolo descrito en la sección 3.3.3.2.

En las bebidas formuladas las muestras sin previa centrifugación adecuadamente diluida se empleó para medir la capacidad antioxidante. En este caso, los compuestos antioxidante extractables y los conjugados se hicieron reaccionar con el DPPH.

3.6.4.2. Procedimiento analítico

La capacidad antioxidante se midió mediante el método del DPPH (F. Abderrahim et al., 2013). Las muestras adecuadamente diluidas (10 µL) se mezcló sobre una placa de 96 pocillos con 200 µL de DPPH (60 µM en metanol/buffer Tris-HCl 10 mM pH 7.5 -1:1 v/v-). La absorbancia a 520 nm, después de 10 minutos de reacción, se midió en una lectora de placa Synergy HTX. En las pulpas, la capacidad antioxidante se expresó en mg de equivalente de Trolox o ácido ascórbico/mL de muestra para ello se empleó la estequiometría conocida que 1 mol de Trolox ó ácido ascórbico inhibe 2 moles de DPPH. En las bebidas formuladas, la capacidad antioxidante se expreso en % de inhibición de DPPH.

3.6.5. Optimización de la bebida funcional antioxidante mediante la metodología de superficie de respuesta (MSR)

La bebida funcional antioxidante elaborada a partir de pulpa de mango, aguaymanto y noni se optimizó mediante MSR con un diseño D-óptima con restricción en la cantidad de noni a menos del 10 % p/p debido a sus características sensoriales de sabor y olor. Se utilizó un modelo de 6 puntos, con 5 puntos para estimar la falta de ajuste del modelo y 5 réplicas. Como variables respuestas (Y) se utilizaron la capacidad antioxidante (método del DPPH) y el atributo sensorial global de aceptabilidad (**Tabla 8**). Asimismo se trabajó con un modelo polinomial de segundo grado para modelar matemáticamente la relación entre las variables respuestas y la proporción de las pulpas de fruta (ecuación 4).

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon \quad (4)$$

Donde:

Y son las variables respuestas de capacidad antioxidante y aceptabilidad, X_1 , X_2 y X_3 son las proporciones de las pulpas de fruta, β_0 , β_i , β_{ii} and β_{ij} son el intercepto y los coeficientes (lineal, cuadrático y la interacción, respectivamente). El residual se denota como ε .

Tabla 8
Diseño D-Optima para optimizar la bebida funcional antioxidante.

Experimentos	Proporción de ingredientes (%)			Capacidad antioxidante y atributos sensoriales (Y)
	Pulpa de mango (A = X1)	Pulpa de aguaymanto (B = X2)	Pulpa de noni (C = X3)	
1	0,000	0,950	0,050	
2	1,000	0,000	0,000	
3	0,186	0,814	0,000	
4	0,022	0,878	0,100	
5	0,500	0,500	0,000	
6	0,668	0,232	0,100	
7	0,900	0,000	0,100	
8	0,900	0,000	0,100	
9	1,000	0,000	0,000	
10	0,833	0,167	0,000	
11	0,000	1,000	0,000	
12	0,542	0,358	0,100	
13	0,000	1,000	0,000	
14	0,000	0,950	0,050	
15	0,022	0,878	0,100	
16	0,245	0,655	0,100	

Se utilizó la MSR para determinar las proporciones de pulpa de mango, noni y aguaymanto que permitan maximizar la capacidad antioxidante y la aceptabilidad de la bebida funcional. La capacidad antioxidante se determinó de acuerdo al método del DPPH descrito en la sección 3.4.2.3.

La evaluación sensorial de la aceptabilidad y de los atributos color y sabor se realizó con 30 panelistas semi-entrenados utilizando una escala hedónica de 9 puntos (**Tabla 9**).

Tabla 9
Escala hedónica para la evaluación sensorial de aceptabilidad.

Valor	Escala
9	Me gusta muchísimo
8	Me gusta mucho
7	Me gusta moderadamente
6	Me gusta poco
5	No me gusta ni me disgusta
4	Me disgusta poco
3	Me disgusta moderadamente
2	Me disgusta mucho
1	Me disgusta muchísimo

Fuente: Adaptado de Sotomayor (2008).

3.6.6. Estabilidad en almacenamiento de la bebida funcional antioxidante optima

La estabilidad en almacenamiento de la bebida funcional antioxidante optimizada mediante MSR se evaluó mediante análisis microbiológicos en condiciones aceleradas de almacenamiento empleando un Diseño Bloque Completamente Aleatorio (DBCA) y la comparación de medias de los tratamientos se realizó mediante la prueba de Tukey. El modelo matemático correspondiente a un DBCA tiene la ecuación (5) siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ijk} \quad (5)$$

Donde:

Y_{ijk} es la característica evaluada de las bebidas en la k -ésima repetición de la j -ésimo tiempo, sometido al i -ésimo temperatura; μ es la media general; τ_i es el efecto del i -ésimo tiempo; β_j es el efecto de la j -ésima temperatura y ε_{ijk} es el efecto del error experimental.

La estabilidad de los compuestos antioxidantes, la capacidad antioxidante y el color de la bebida funcional antioxidante óptima fueron evaluadas a diferentes tiempos de almacenamiento 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27 y 30 días de almacenamiento a 25 °C, 35°C y 45°C. El contenido de carotenoides totales, polifenoles totales, ácido ascórbico, capacidad antioxidante se evaluaron de acuerdo a las metodologías descritas en las secciones 3.4.2.2 y 3.4.2.3, respectivamente.

3.6.7. Acondicionamiento de las pulpas de fruta

En la **Figura 20** se muestra el diagrama de flujo de obtención de las pulpas de mango, noni y aguaymanto. A continuación, se describe las operaciones.

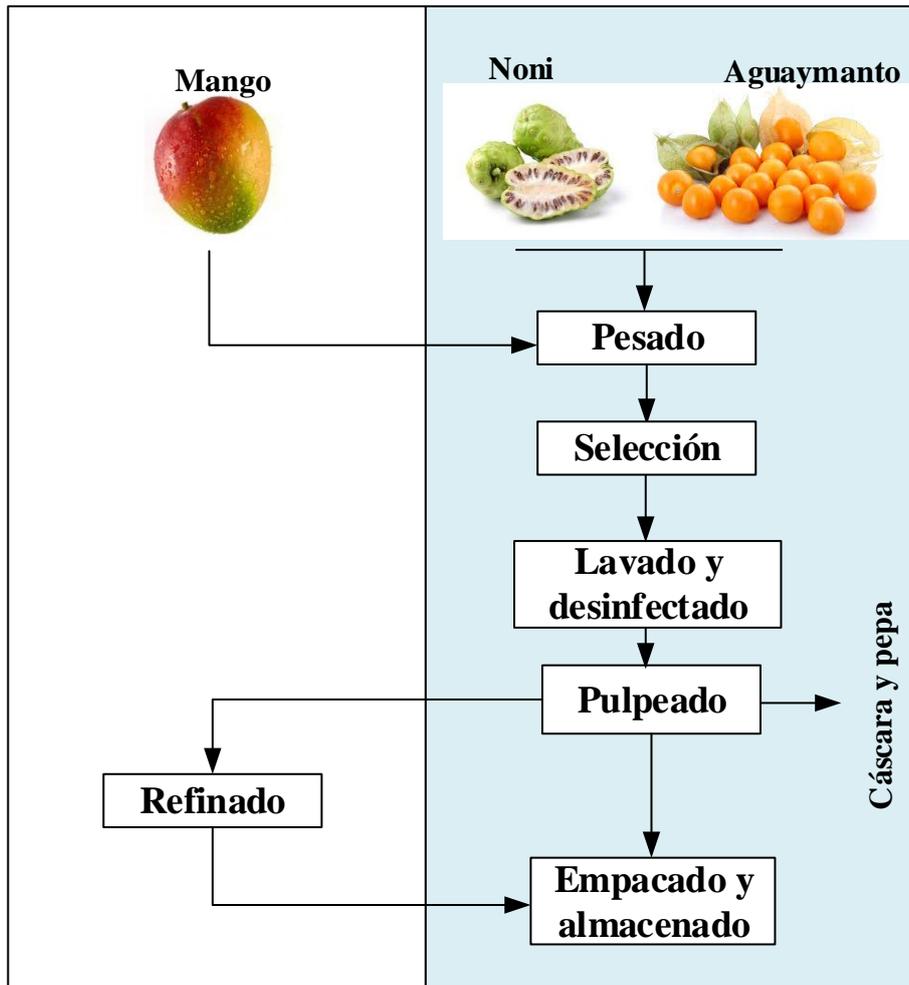


Figura 20. Diagrama de flujo de obtención de las pulpas de mango, noni y aguaymanto.

Pesado

Los frutos del mango, noni y aguaymanto se pesaron para determinar los rendimientos de los procesos de obtención de las pulpas.

Selección

En esta operación se eliminaron aquellas frutas magulladas y las que no reunieron las condiciones de calidad para ser procesadas.

Lavado y desinfección

Se realizó para eliminar cualquier partícula extraña que puede estar adherida a la fruta. Se realizó por inmersión agitación o por aspersion o rociada. La fruta lavada se desinfecto por inmersión en una solución de Tego 51 al 0,5% v/v durante 15 minutos.

Pulpeado

Esta operación se realizó en una pulpeadora y permitió obtener la pulpa de fruta libre de cáscaras y pepas.

Refinado

Esta operación consistió en pasar la pulpa a una segunda operación de pulpeado utilizando una malla que elimina partículas superiores a 1 mm de diámetro.

Empacado y almacenamiento

Las pulpas de fruta se empacaron en sendas bolsas de polietileno y se almacenaron a temperatura de 0°C.

3.6.8. Procesamiento de las bebidas funcionales antioxidantes

Las operaciones a realizar para la obtención de bebidas funcionales antioxidantes elaboradas según el diseño D-optima, se detallan a continuación, asimismo se tiene el diagrama de flujo en la **Figura 21**.

Pesado

Se pesaron las diferentes mezclas de pulpas según el diseño D-optima (Tabla 8).

Estandarizado

En esta operación se ajustó el pH y los ° Brix de las mezclas de pulpas.

Refinado

Se realizó en un molino coloidal con la finalidad de reducir el tamaño de partícula de la pulpa hasta un diámetro de 15 mm.

Pasteurizado

Se realizó a 85 °C por 5 minutos para garantizar la inocuidad del producto.

Envasado y sellado

Se realizó manualmente en botellas de vidrio previamente esterilizadas a una temperatura de 100 °C usando medidores de plástico de 1 L. El sellado se realizó en forma manual inmediatamente después del envasado.

Enfriado y lavado

Las bebidas funcionales se enfriaron rápidamente con agua potable haciendo correr el agua a presión. El lavado se realizó con agua fría con la finalidad de eliminar restos adheridas en la parte externa de las botellas.

Almacenamiento

Las muestras de las bebidas funcionales se almacenaron a 4 °C hasta su análisis, también fueron evaluadas a diferentes tiempos de almacenamiento 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27 y 30 días de almacenamiento a diferentes temperaturas 25 °C, 35°C y 45°C.

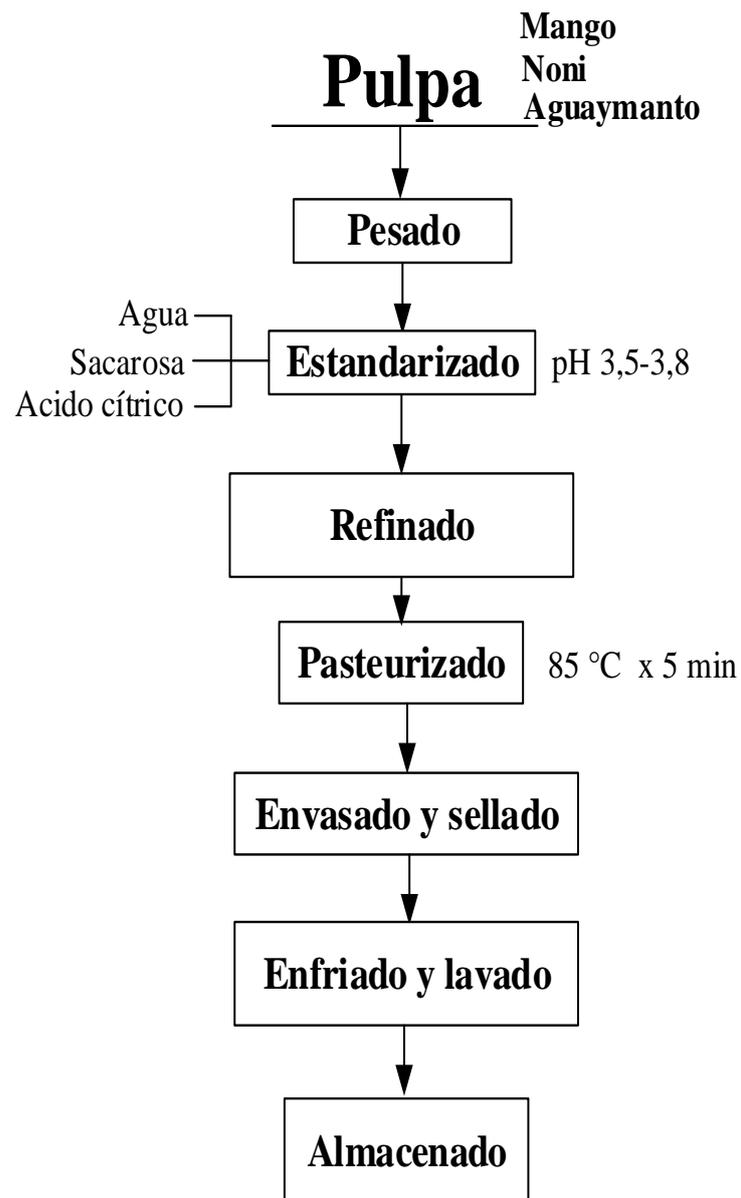


Figura 21. Diagrama de flujo del procesamiento de bebidas funcionales antioxidantes en base pulpa de mango, noni y aguaymanto.

3.7. Análisis de datos

Los datos experimentales se procesaron utilizando hojas de cálculo en Excel. Se calcularon las medidas de tendencia central y de dispersión de todas las mediciones realizada por triplicado. Los datos procesados se analizaron mediante estadística descriptiva e inferencial. Las diferencias entre los métodos y/o procesos se evaluaron utilizando la prueba t. La optimización de la bebida funcional antioxidante se realizó mediante la metodología de superficie de respuesta (Software Design Expert). Las pruebas sensoriales de aceptación se evaluaron mediante las pruebas t, Friedman y mapas de preferencias (Software XLSTAT). El análisis de regresión lineal y no lineal, análisis de varianza se evaluaron con el Software GraphPad Prism.

CAPITULO IV

RESULTADOS

4.1. Contrastación de Hipótesis

4.1.1. Caracterización Físicoquímica de pulpas de frutas

En las Tablas 10-12 se muestran los parámetros físicoquímicos de las pulpas de frutas que se emplearon como materia prima en la formulación y el diseño de la bebida antioxidante funcional. Los parámetros físicoquímicos evaluados en las Tablas 10-12 están relacionados con el nivel de madurez de las frutas post-cosecha que son importantes en la definición de las características sensoriales y el contenido de los principales antioxidantes (ácido ascórbico, compuestos fenólicos y carotenoides) de las pulpas.

Tabla 10
Caracterización fisicoquímica de pulpas de mango. Los valores representan el promedio \pm desviación estándar (n=3).

Parámetros fisicoquímicos	Valores
Sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix)	19,30 \pm 0,06
Acidez titulable ^a (%)	1,58 \pm 0,01
Índice de madurez ($^{\circ}$ Brix/acidez titulable)	12,24 \pm 0,03
pH	3,24 \pm 0,06
Humedad %	76,46 \pm 0,40

^aExpresada en % de ácido cítrico

Los sólidos solubles de las pulpas de mango, noni y aguaymanto varió entre 8,40 y 19,30 que no significa diferencia en los niveles de madurez de las frutas. De hecho, en frutas climatéricas -aquellas que continúan madurando después de ser cosechadas- el contenido de carbohidratos se incrementa durante la maduración, pero cuando la fruta alcanza la madurez organoléptica estos carbohidratos presentes en forma de almidón son hidrolizados y se produce una acumulación de azúcares. En las frutas no climatéricas se produce la acumulación solo de azúcares durante el proceso de maduración. En ambos casos, el monitoreo de los azúcares es un indicador del estado de madurez de la fruta. En la práctica los sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix) está relacionado con del contenido de azúcares de las frutas (Thompson, 2003).

Tabla 11

Caracterización fisicoquímica de la pulpa de noni. Los valores representan el promedio \pm desviación estándar (n=3).

Parámetros fisicoquímicos	Valores
Sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix)	$8,40 \pm 0,20$
Acidez titulable ^a (%)	$0,33 \pm 0,01$
Índice de madurez ($^{\circ}$ Brix/acidez titulable)	$25,45 \pm 1,49$
pH	$4,93 \pm 0,05$
Humedad %	$88,49 \pm 0,86$

^a Expresada en % de ácido cítrico

Las pulpas de mango y aguaymanto mostraron niveles similares de acidez titulable, medido en términos de ácido cítrico (Tabla 12 y 13), los mismos que fueron superiores al nivel encontrado en la pulpa de noni (Tabla 12). Es conocido que la acidez en muchas frutas se reduce durante el proceso de maduración; sin embargo, en la práctica es la proporción $^{\circ}$ Brix/ acidez titulable el indicador de referencia del estado de madurez de las frutas (Thompson, 2003). En el caso de las pulpas evaluadas, el índice de madurez osciló entre 8,59 y 25,45 (Tabla 12-13).

Tabla 12
Caracterización fisicoquímica de la pulpa de aguaymanto. Los valores representan el promedio \pm desviación estándar ($n=3$).

Parámetros fisicoquímicos	Valores
Sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix)	$13,80 \pm 0,26$
Acidez titulable ^a (%)	$1,60 \pm 0,01$
Índice de madurez (IM) ($^{\circ}$ Brix/acidez titulable)	$8,59 \pm 0,13$
pH	$3,55 \pm 0,09$
Humedad %	$78,63 \pm 0,19$

^aExpresada en % de ácido cítrico

En el caso del pH, si bien no suele ser usado un indicador del estado de madurez, refleja el equilibrio entre el contenido de ácido y las diferentes sustancias tamponas, amortiguadora de los cambios de pH, presentes en las frutas (Thompson, 2003). Es decir, a diferencia de la acidez titulable, el valor de pH no refleja el contenido de ácidos.

4.1.2. Compuestos antioxidantes de las pulpas de frutas

Caracterizadas las materias primas en términos de parámetros de madurez, la siguiente etapa consistió en cuantificar el contenido de los principales compuestos antioxidantes presente en las frutas: ácido ascórbico, fenólicos totales y carotenoides. El contenido de compuestos antioxidantes varía con el grado de madurez de las frutas y que sumado a los atributos sensoriales definirán sus proporciones en la bebida antioxidante funcional.

4.1.2.1. Ácido ascórbico

En la Tabla 13 y la Figura 22 se muestran los contenidos de ácido ascórbico en las pulpas de mango, aguaymanto y noni. Las pulpas de mango y aguaymanto presentan valores inferiores a 500 mg/L; en tanto, la pulpa de noni -valorado por su tenor en ácido ascórbico- es la que contiene mayor cantidad de ácido ascórbico (por encima de 1500 mg/L), incluso triplica el valor encontrado en pulpa de aguaymanto. A falta de la valoración de los atributos sensoriales de las pulpas, desde la perspectiva antioxidante a priori la proporción de pulpa de mango y noni en la bebida antioxidante funcional debería ser superior a la de la pulpa de aguaymanto. Para determinar el contenido de ácido ascórbico se empleó la distancia de Euclides calculado a partir de los valores de color HSV. Los coeficientes de determinación (R^2) de las rectas de calibrado en todos los casos resultaron mayores que 0.9, que garantizaron la fiabilidad de las cuantificaciones.

Tabla 13
Valores ácido ascórbico para pulpa de mango, aguaymanto, y noni

Compuesto bioactivo	Mango	Aguaymanto	Noni
Acido ascórbico (mg ácido ascórbico/100 mL)	365,395 ± 11.63	382,279 ± 23.56	1668,80 ± 13,96

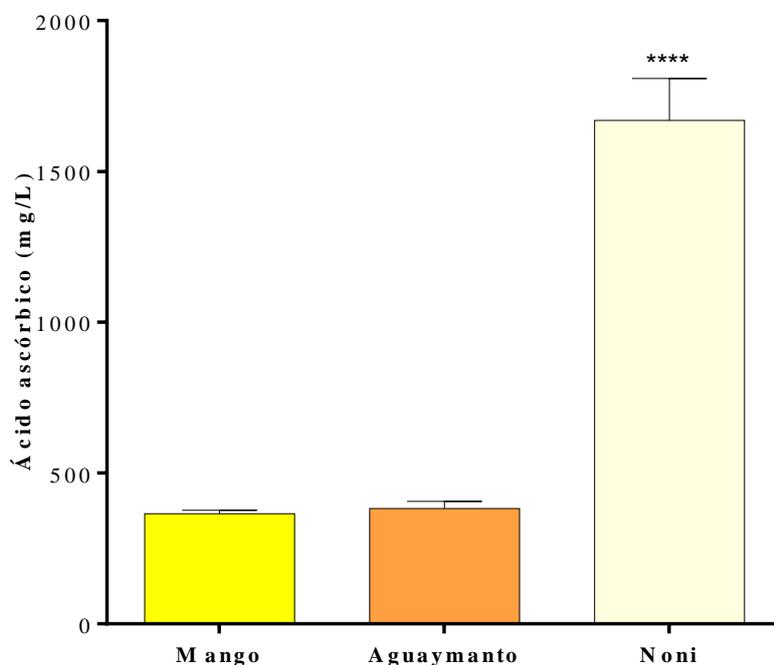


Figura 22. Contenido de ácido ascórbico de las pulpas de mango, aguaymanto y noni. los valores representan el promedio \pm desviación estándar (n=3).

4.1.2.2. Fenólicos totales

El contenido de compuestos fenólicos de las pulpas de mango, aguaymanto y noni (Tabla 15) en términos generales mostraron la misma tendencia que el contenido de ácido ascórbico. Las pulpas de mango y noni mostraron valores similares y ligeramente superior a 1.5 mg ácido gálico/mL; en tanto, el tenor en la pulpa de aguaymanto resultó inferior a 0.5 mg ácido gálico/mL (Figura 23). Estos valores, a falta de la valoración de los atributos sensoriales

de las pulpas, también ratificaron que las proporciones de pulpa de mango y noni en la bebida antioxidante funcional debería ser superior a la de la pulpa de aguaymanto. En el **Anexo E** se muestra el *ANOVA* para la cuantificación de los compuestos fenólicos totales.

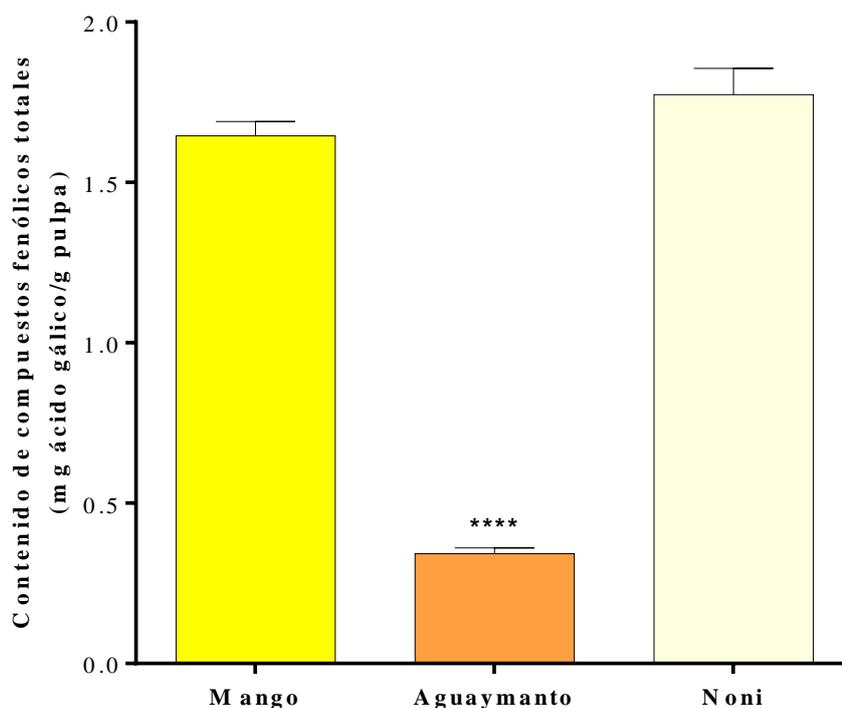


Figura 23. Contenido de compuestos fenólicos totales de las pulpas de mango, aguaymanto y noni. Los valores representan el promedio \pm desviación estándar (n=3).

4.1.2.3. Carotenoides

A diferencia de los compuestos antioxidantes anteriores (ácido ascórbico y fenólicos), la pulpa de noni no contiene carotenoides, con lo que su proporción en la bebida antioxidante puede reducirse dependiendo de la capacidad antioxidante que muestren las otras pulpas de frutas. La pulpa de mango presentó más de 3,5 mg/100 g, aproximadamente el triple de la que

se encontró en la pulpa de aguaymanto (Figura 24). Por lo tanto, sin tomar en cuenta los atributos sensoriales de las pulpas, la proporción de la pulpa de aguaymanto en la bebida antioxidante funcional optimizadas debería ser baja.

Tabla 14
Contenido de fenólicos y carotenoides totales de las pulpas de mango, aguaymanto y noni

Compuestos	Mango	Aguaymanto	Noni
bioactivos			
Fenólicos totales (mg ácido gálico/g pulpa)	1,64 ± 0.05	0,34 ± 0,02	1,77± 0,08
Carotenoides totales (mg /100 g muestra)	3,2 ± 0.02	1,18 ± 0,010	-----

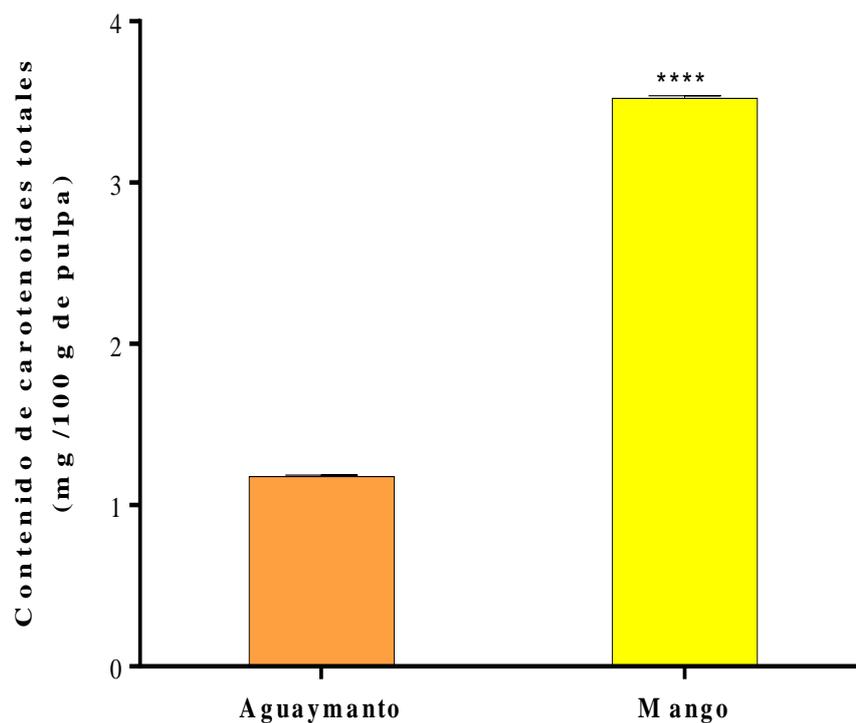


Figura 24. Contenido de carotenoides totales de las pulpas de mango y aguaymanto. Los valores representan el promedio \pm desviación estándar (n=3).

Mediante la aplicación del procedimiento de deconvolución de los espectros de absorción, pudimos determinar que la pulpa de mango es rica en zeaxantina y la de aguaymanto en β -caroteno con niveles que representan aproximadamente el 80 y 90% del contenido total de carotenoides (Figura 25).

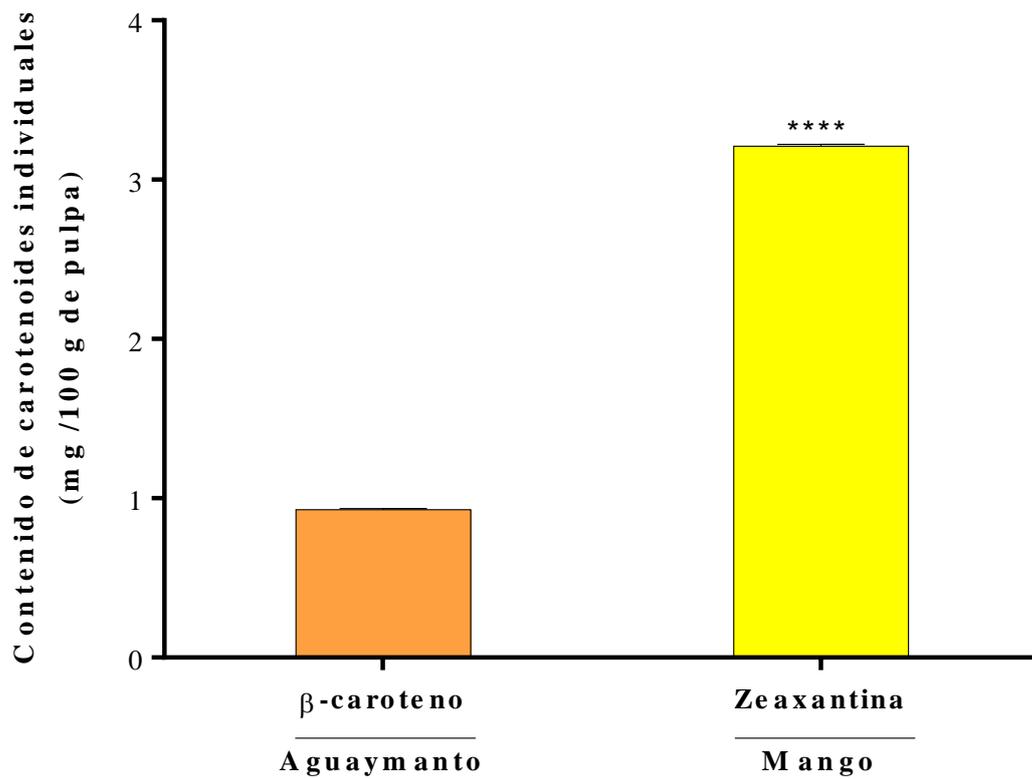


Figura 25. Contenido de carotenoides individuales de las pulpas de mango y aguaymanto. Los valores representan el promedio \pm desviación estándar (n=3).

4.1.3. Capacidad antioxidante de las pulpas de frutas

En la misma tendencia observada (Tabla 15) para el contenido de ácido ascórbico y compuestos fenólicos totales, la pulpa de noni presentó la más alta capacidad antioxidante (**Figura 26**) a pesar de no contener carotenoides. Por otro lado, es reseñable que la pulpa de mango aun cuando contiene mayor cantidad de carotenoides su capacidad antioxidante no supera de manera significativa a la del aguaymanto.

Se señala que la capacidad antioxidante de un alimento se debe a la actividad antioxidante de sus diferentes compuestos bioactivos, entre los cuales tenemos a los compuestos fenólicos, carotenos, antocianinas, ácido ascórbico, etc (Dragovic-Uzelac, Levaj, Mrkic, Bursac, & Boras, 2007) (Dragovic-Uzelac et al., 2007). Por lo tanto, se puede decir que son los compuestos fenólicos, y ácido ascórbico presentes en el noni, los que aportan su potencial antioxidante, existiendo a su vez un efecto sinérgico entre los compuestos bioactivos que conforman el fruto (Navarro, Flores, Garrido, & Martinez, 2006).

Tabla 15
Capacidad antioxidante de pulpas de mango, aguaymanto y noni

	Mango	Aguaymanto	Noni
DPPH (mg de trolox/100 g muestra)	204,24 ± 5,95	115,94 ± 2,58	480,56 ± 34,06
Acido ascórbico (mg equivalente de ácido ascórbico/100 mL)	143,71 ± 4,18	81,59 ± 1,81	338,15 ± 23,96

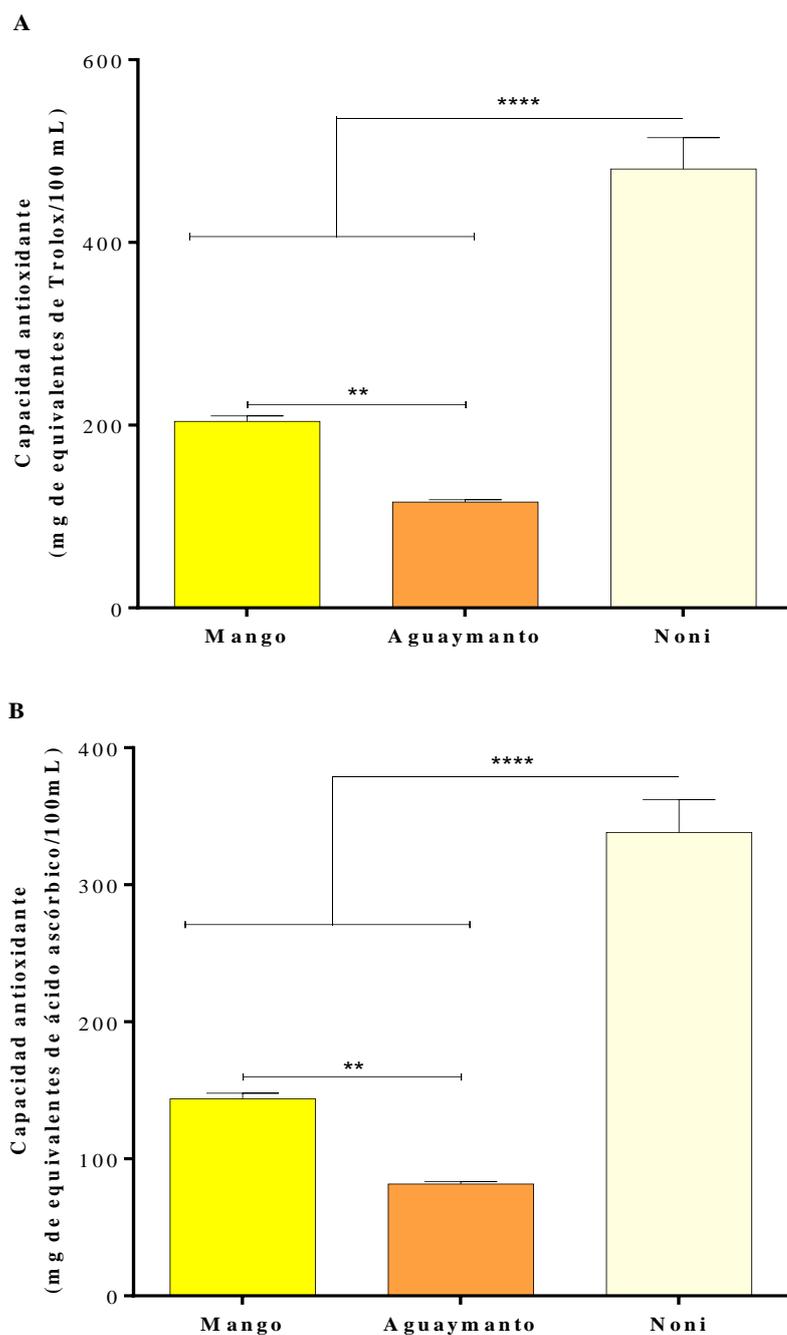


Figura 26. Capacidad antioxidante de las pulpas de mango, aguaymanto y noni medido mediante el método del DPPH, expresado en equivalentes de Trolox (A) y en equivalentes de ácido ascórbico (B). Los valores representan el promedio \pm desviación estándar (n=3).

4.1.4. Optimización de la bebida funcional antioxidante mediante la metodología de superficie de respuesta

Para la optimización de la bebida funcional antioxidante se aplicó la metodología de superficie de respuesta. Específicamente se empleó el diseño D-Optima con restricción para la proporción de pulpa de noni. La proporción de la pulpa de noni en la bebida fue restringida a un máximo de 10% p/p tomando en cuenta sus atributos sensoriales. La proporción se estableció mediante un estudio sensorial preliminar. Como criterios de calidad (variables respuestas) para la optimización de la formulación se tomó en cuenta la capacidad antioxidante y los atributos sensoriales de color, sabor y aceptabilidad. En la **Tabla 16** se presenta los valores de las variables respuestas obtenidas para el diseño D-Optima.

4.2. Análisis e interpretación

De acuerdo al ANOVA del análisis de regresión, el modelo cúbico especial ajusta los datos experimentales de capacidad antioxidante de las formulaciones (**Tabla 17**, $p < 0,0001$ y R^2 ajustado = 0.9467). En el caso de los atributos sensoriales se tiene que las bondades de ajuste de los modelos cuadráticos son menores pero significativas (**Tablas 18-20**, $p < 0,05$) con valores de R^2 ajustado para el color (0.6744), sabor (0.5941) y aceptabilidad (0.6356). Entonces se puede deducir que el modelamiento de los atributos sensoriales guarda relación con la sensibilidad del panel sensorial.

Tabla 16

Diseño D-Optima para optimizar la mezcla de pulpa de mango, aguaymanto y noni en la formulación de la bebida funcional antioxidante. Los valores de las variables respuesta son el promedio (n=3).

Experimento	Proporción de ingrediente (fracción decimal)			Variables respuestas (Y)			
	Pulpa de mango (A)	Pulpa de aguaymanto (B)	Pulpa de noni (C)	Capacidad antioxidante (% inhibición de DPPH)	Atributos sensoriales		
					Color	Sabor	Aceptabilidad
1	0,000	0,950	0,050	12,13	6,35	6,25	6,98
2	1,000	0,000	0,000	19,14	11,47	12,18	12,50
3	0,186	0,814	0,000	14,58	8,32	6,95	7,70
4	0,022	87,8	0,100	14,31	7,72	9,05	8,10
5	0,500	0,500	0,000	15,01	9,60	8,78	8,05
6	0,668	0,232	0,100	19,40	11,77	13,17	12,07
7	0,900	0,000	0,100	25,58	7,78	6,87	7,38
8	0,900	0,000	0,100	25,10	7,78	7,12	7,38
9	1,000	0,000	0,000	18,90	11,28	11,45	11,85
10	0,833	0,167	0,000	17,30	9,20	8,87	9,12
11	0,000	1,000	0,000	13,57	4,12	4,07	4,12
12	0,542	0,358	0,100	15,86	8,47	7,77	7,7
13	0,000	1,000	0,000	13,90	8,78	9,28	9,83
14	0,000	0,950	0,050	13,78	7,90	6,27	6,88
15	0,022	0,878	0,100	13,66	7,72	9,05	8,10
16	0,245	0,655	0,100	13,76	7,75	8,88	8,23

Tabla 17
Análisis de varianza del modelo cúbico especial del análisis de regresión de la capacidad antioxidante de las bebidas formuladas.

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F	Valor P	Significancia
Modelo	241,96	6	40,33	45,44	< 0,0001	Si
Mezcla lineal	185,15	2	92,57	104,32	< 0,0001	
AB	3,10	1	3,10	3,49	0,0944	
AC	0,73	1	0,73	0,82	0,3884	
BC	1,14	1	1,14	1,28	0,2863	
ABC	23,98	1	23,98	27,03	0,0006	
Residual	7,99	9	0,89			
Falta de ajuste	6,20	4	1,55	4,35	0,0693	NS
Error puro	1,78	5	0,36			
Total	249,95	15				

Tabla 18

Análisis de varianza del modelo cuadrático del análisis de regresión del color de las bebidas formuladas.

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F	Valor P	Significancia
Modelo	57,77	5	11,55	7,21	0,0042	Si
Mezcla lineal	36,30	2	18,15	11,33	0,0027	
AB	6,98	1	6,98	4,36	0,0634	
AC	1,60	1	1,60	1,00	0,3418	
BC	2,00	1	2,00	1,25	0,2895	
Residual	16,02	10	1,60			
Falta de ajuste	14,80	5	2,96	12,14	0,0080	Si
Error puro	1,22	5	0,24			
Total	73,79	15				

Tabla 19

Análisis de varianza del modelo cuadrático del análisis de regresión del sabor de las bebidas formuladas.

Fuente	Suma de	GL	Cuadrado	F	Valor P	Significancia
Fuente	Suma de	GL	Cuadrado	F	Valor P	Significancia
	cuadrados		medio			
	cuadrados		medio			
Modelo	73,02	5	14,60	5,39	0,0116	Si
Mezcla lineal	36,39	2	18,19	6,72	0,0142	
AB	3,45	1	3,45	1,27	0,2856	
AC	0,29	1	0,29	0,11	0,7512	
BC	0,094	1	0,094	0,035	0,8561	
Residual	27,09	10	2,71			
Falta de ajuste	26,79	5	5,36	89,93	< 0,0001	Si
Error puro	0,30	5	0,06			
Total	100,11	15				

Modelo	65,10	5	13,02	6,23	0,0071	Si	Tabla 20 <i>Análisis de varianza del modelo o cuadrático</i>
Mezcla lineal	38,78	2	19,39	9,28	0,0053		
AB	1,56	1	1,56	0,75	0,4075		
AC	0,40	1	0,40	0,19	0,6703		
BC	0,70	1	0,70	0,33	0,5763		
Residual	27,09	10	2,09				
Falta de ajuste	26,79	5	4,14	95,61	< 0,0001	Si	
Error puro	0,22	5	0,043				
Total	85,99	15					

del análisis de regresión de aceptabilidad de las bebidas formuladas.

4.2.1. Efecto de la proporción de las pulpas de frutas sobre la capacidad antioxidante y los atributos sensoriales

La capacidad antioxidante de las bebidas formuladas aumenta con la proporción de pulpa de mango (**Figura 27**). Este comportamiento es coherente con el mayor contenido de fenólicos totales, carotenoides y por supuesto con la capacidad antioxidante de la pulpa de mango en comparación con la pulpa de aguaymanto (**Figuras 28-29**). En la misma dirección, una mayor proporción de la pulpa de mango en las bebidas formuladas mejora los atributos sensoriales de color, sabor y aceptabilidad (**Figuras 30**).

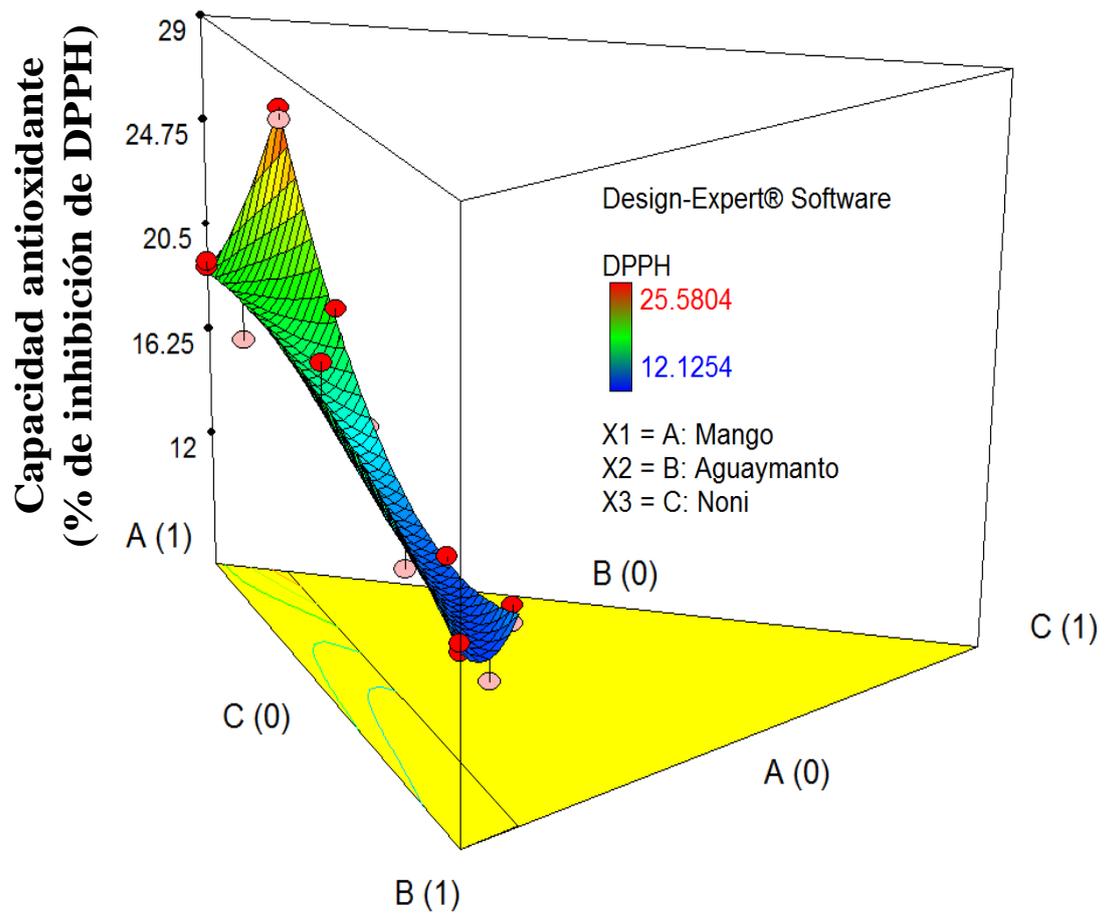


Figura 27. Superficie de respuesta y de contorno de la capacidad antioxidante de las bebidas formuladas según un diseño D-Optima. La capacidad antioxidante esta expresado en porcentaje de inhibición de DPPH. Los valores representan el promedio (n=3).

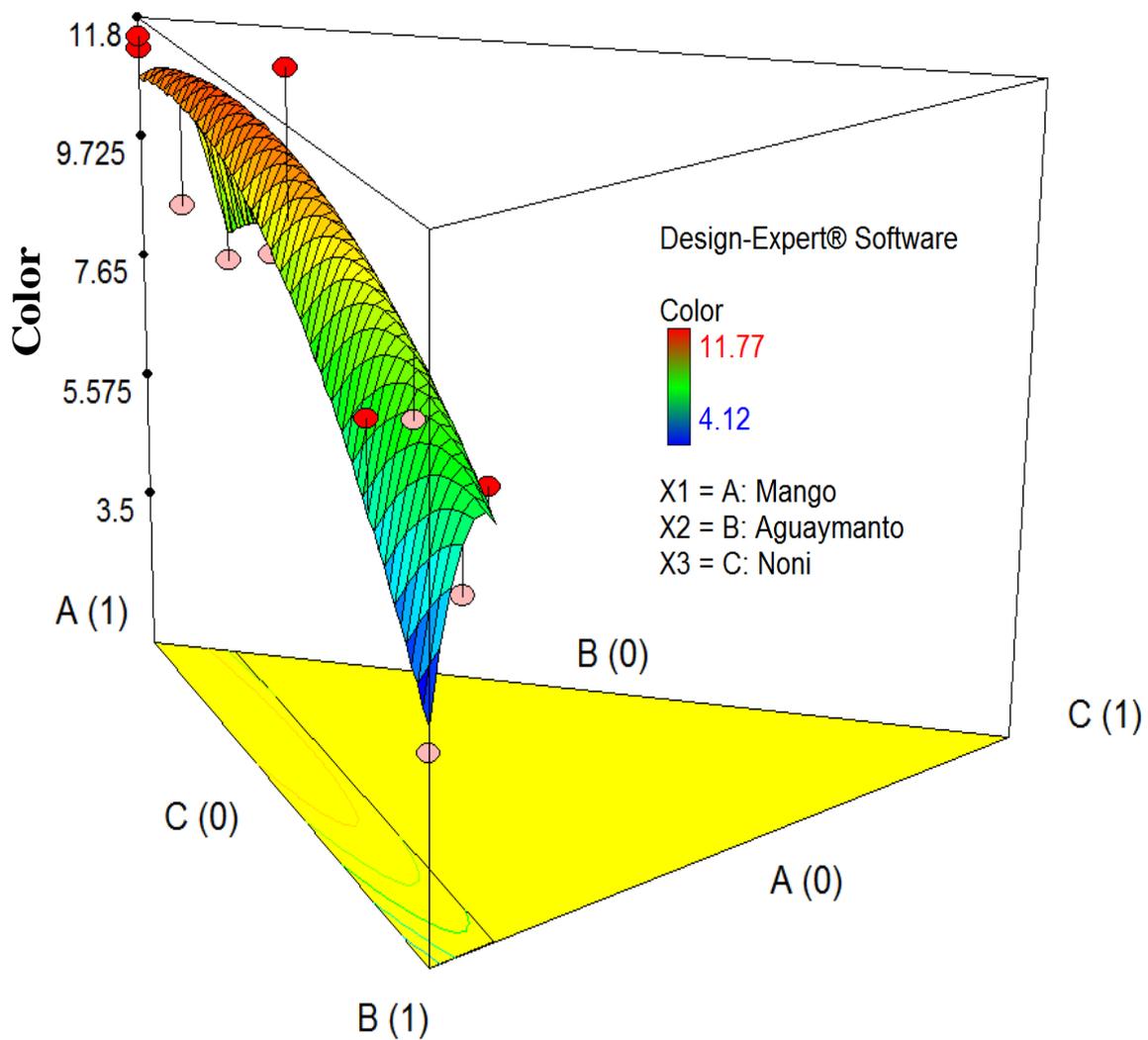


Figura 28. Superficie de respuesta y de contorno del atributo sensorial color de las bebidas formuladas según un diseño D-Optima. El color se midió mediante un panel semi-entrenado constituido por 30 panelistas. Los valores representan el valor promedio de la evaluación sensorial.

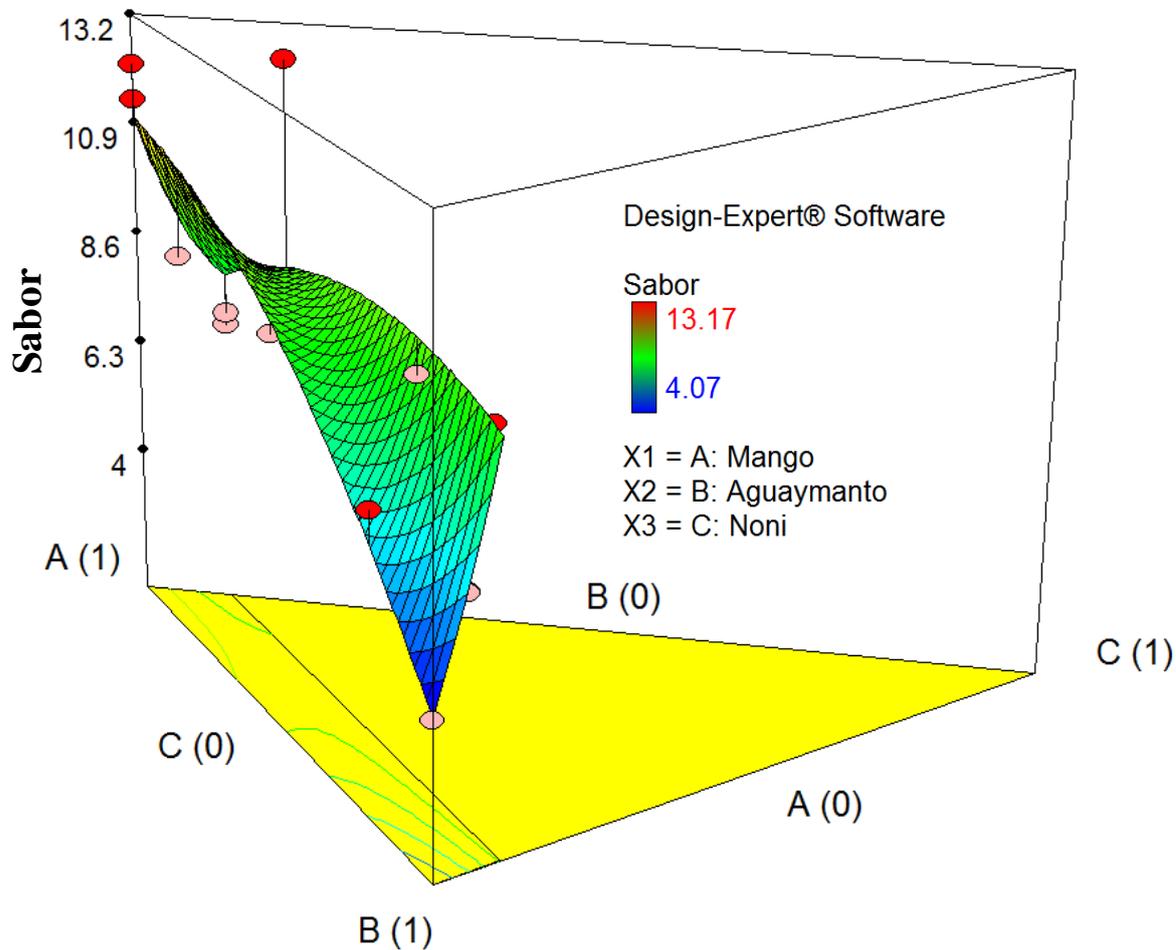


Figura 29. Superficie de respuesta y de contorno del atributo sensorial sabor de las bebidas formuladas según un diseño D-Optima. El sabor se midió mediante un panel semi-entrenado constituido por 30 panelistas. Los valores representan el valor promedio de la evaluación sensorial.

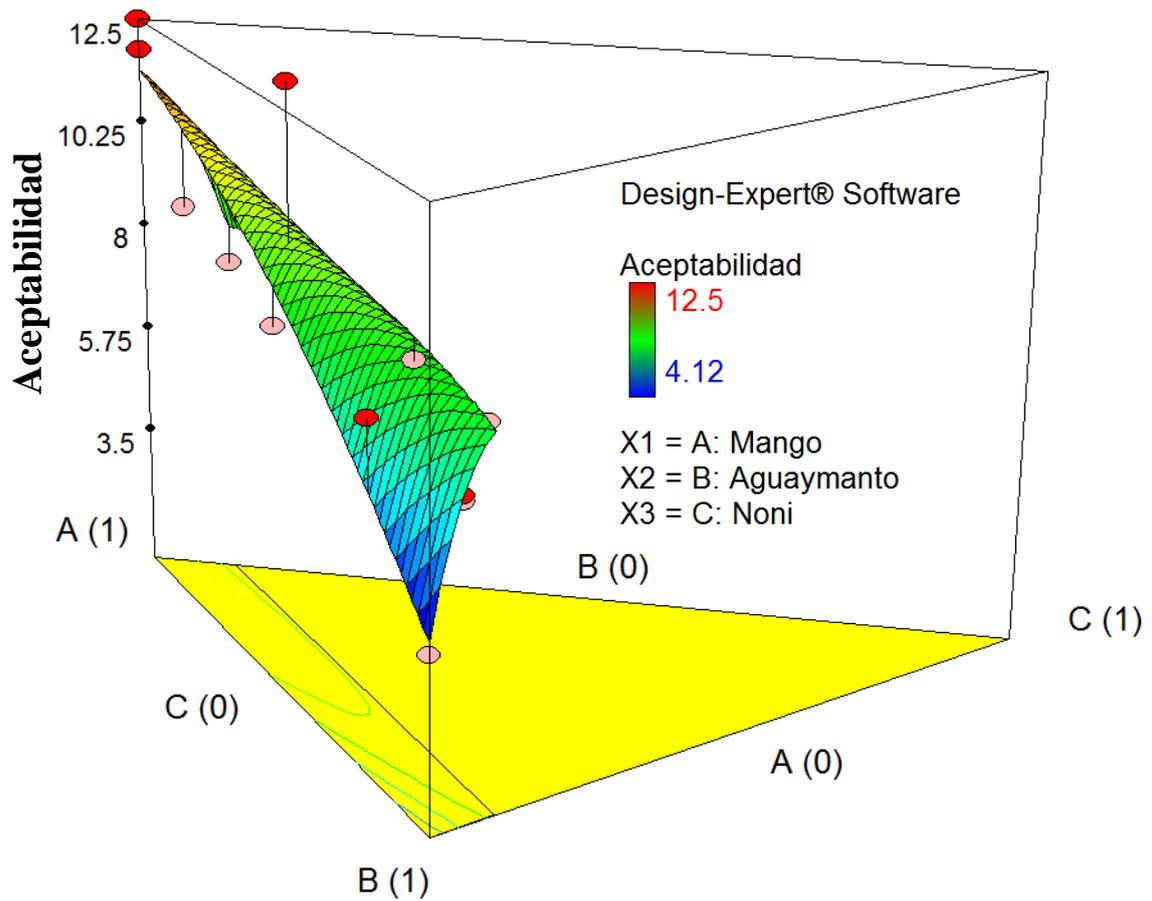
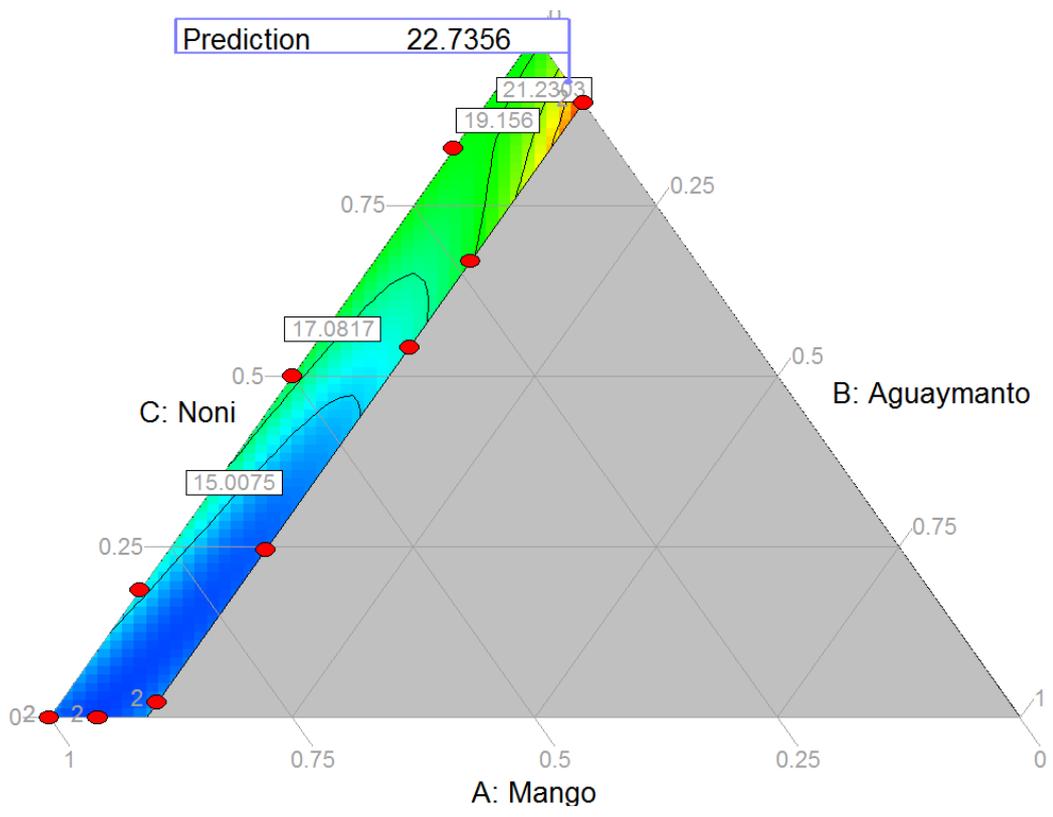


Figura 30. Superficie de respuesta y de contorno del atributo sensorial aceptabilidad de las bebidas formuladas según un diseño D-Optima. La aceptabilidad se midió mediante un panel semi-entrenado constituido por 30 panelistas. Los valores representan el valor promedio de la evaluación sensorial.

4.2.2. Optimización de la bebida funcional antioxidante

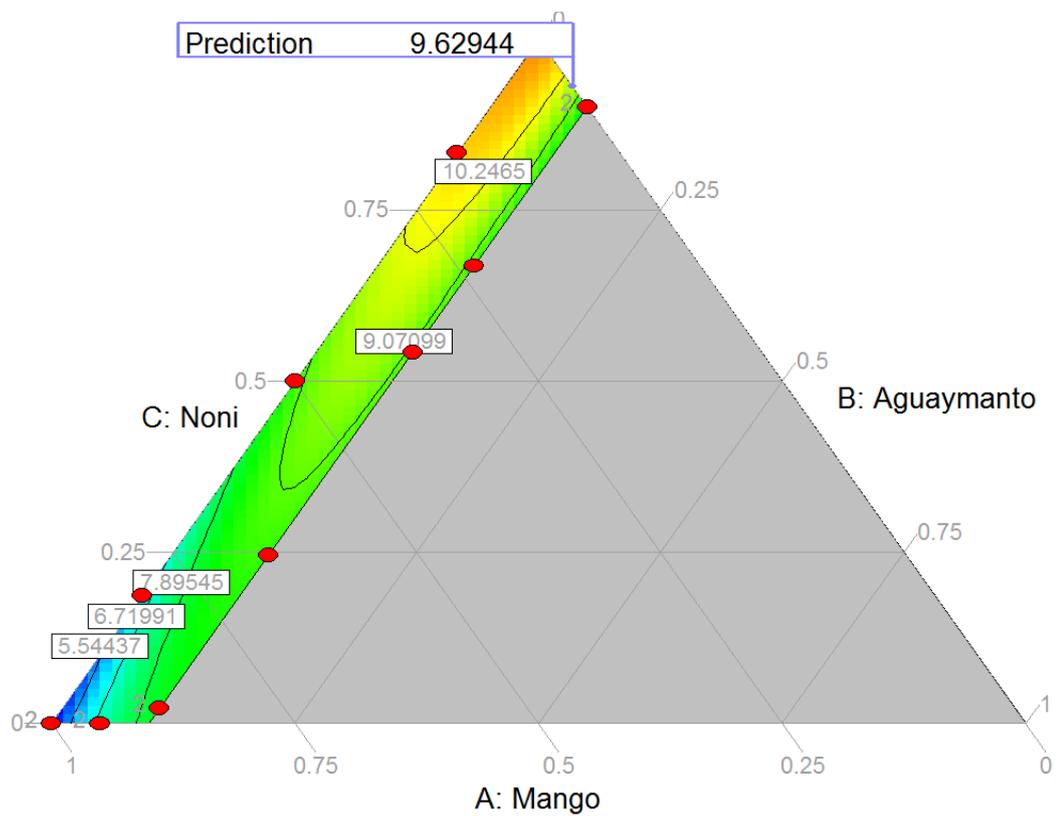
Para determinar la formulación óptima de la bebida funcional antioxidante se maximizaron la capacidad antioxidante como los atributos sensoriales. En este último caso, dado que la aceptabilidad engloba de manera general las características sensoriales de las formulaciones, fue empleada como variable respuesta a maximizar. Los modelos de regresión para estas variables respuestas fueron empleadas para determinar la bebida funcional óptima. En la **Figura 31** se muestra la gráfica de contorno de la capacidad antioxidante y la capacidad antioxidante óptima predicha (22.7356) por la metodología de superficie de respuesta D-Optima.



**Capacidad antioxidante
(% de inhibición de DPPH)**

Figura 31. Líneas contorno de la capacidad antioxidante obtenido en la optimización de la bebida funcional antioxidante.

La gráfica de contorno del atributo sensorial aceptabilidad muestra que el óptimo fue de 9.6294 (Figura 32) de la bebida funcional antioxidante. Dicho valor óptimo se corresponde con un mayor contenido de pulpa de mango.



Aceptabilidad

Figura 32. Líneas contorno de la aceptabilidad obtenido en la optimización de la bebida funcional antioxidante.

Finalmente, la superposición de las variables respuestas (capacidad antioxidante y aceptabilidad) permitió determinar la formulación óptima de la bebida funcional antioxidante.

La formulación de X_1 (pulpa de mango) = 0,93, X_2 (pulpa de aguaymanto) = 0,00 y X_3 (pulpa de noni) = 0,07 permitió maximizar las variables respuestas (**Figura 33**).

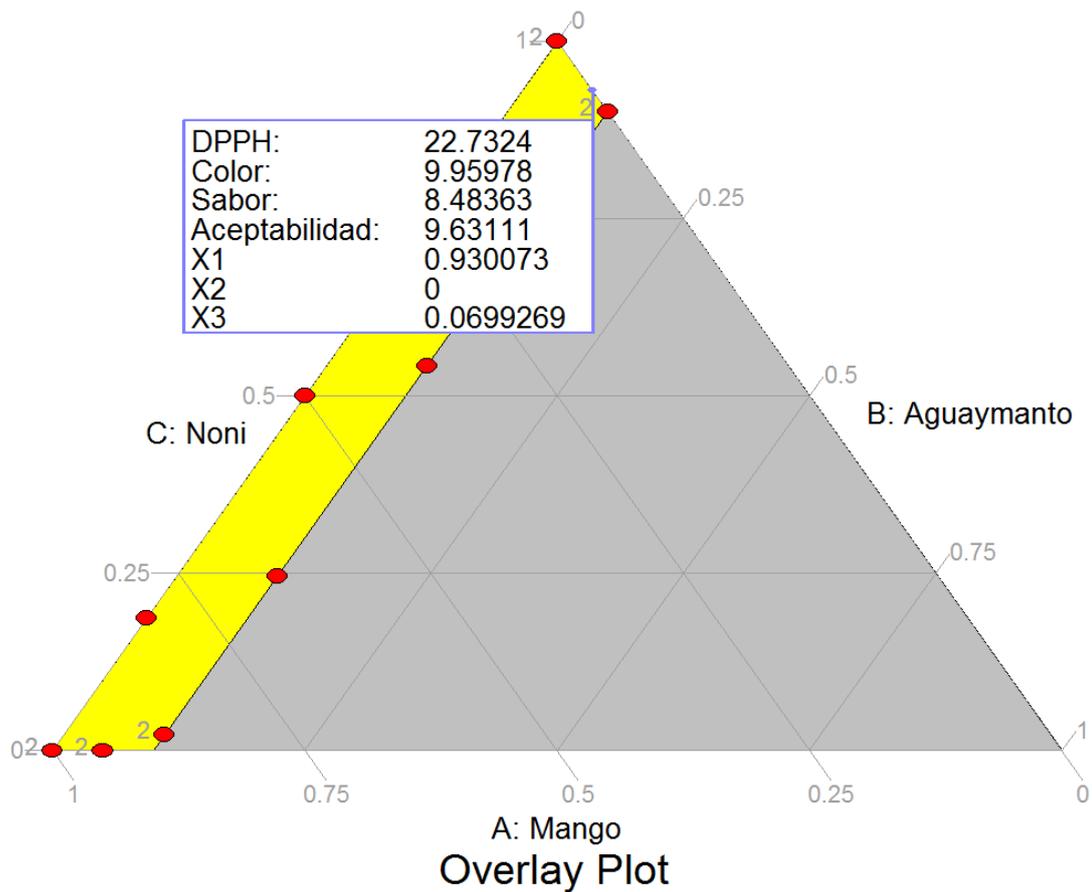


Figura 33. Superposición de la capacidad antioxidante y aceptabilidad para la determinación de la formulación óptima.

4.2.3. Estabilidad en almacenamiento de la bebida funcional antioxidante optimizada

4.2.3.1. Carotenoides totales, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante

El contenido relativo de carotenoides totales disminuyó significativamente con el tiempo y la temperatura de almacenamiento (**Figura 34**). La reducción del tenor de carotenoides totales se evidenció a un menor tiempo de almacenamiento cuando la temperatura fue mayor (**Figura 34B -34C**). Contrariamente a lo observado con los carotenoides totales, el contenido relativo de compuesto fenólicos totales medidos por el método de Folin-Ciocalteu se incrementó con el tiempo de almacenamiento a 35°C y 45°C (**Figura 35B – 35C**).

La capacidad antioxidante de la bebida funcional antioxidante óptima disminuyó con el tiempo de almacenamiento, siendo más notorio tal reducción a 45°C (**Figura 36**). Si comparamos con la (**Figura 34**), esta tendencia de reducción fue menor al observado para el contenido de carotenoides.

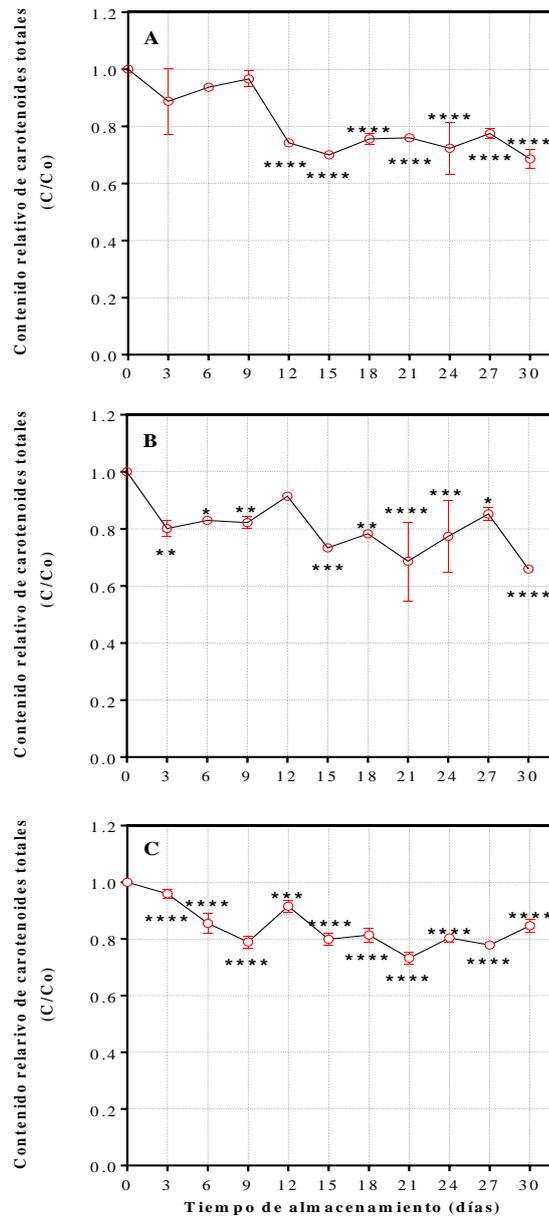


Figura 34. Contenido relativo de carotenoides totales de la bebida funcional antioxidante durante el almacenamiento a 25 °C (A), 35 °C (B) y 45 °C (C). Los valores a diferentes tiempos (C) se relativizaron respecto al valor inicial (C₀). Los valores mostrados son el promedio ± SD (n=3). La prueba de Dunnett fue empleada para comparación con el control de tiempo 0 de almacenamiento (* p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001, **** p < 0,0001).

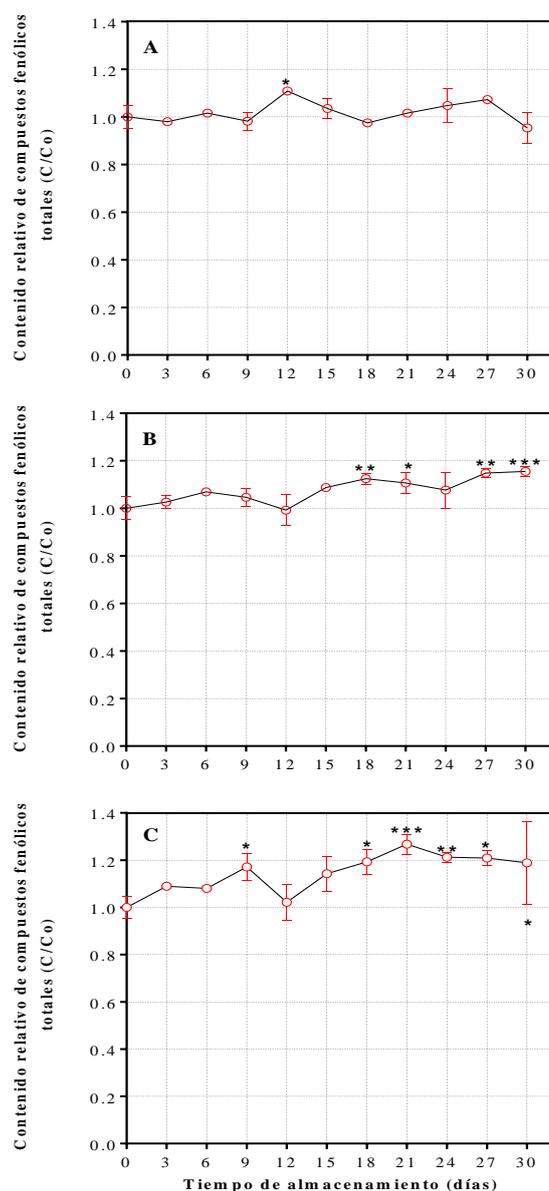


Figura 35. Contenido relativo de compuestos fenólicos de la bebida funcional antioxidante durante el almacenamiento a 25 °C (A), 35 °C (B) y 45 °C (C). Los valores a diferentes tiempos (C) se relativizaron respecto al valor inicial (Co). Los valores mostrados son el promedio \pm SD (n=3). La prueba de Dunnett fue empleada para comparación con el control de tiempo 0 de almacenamiento (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$).

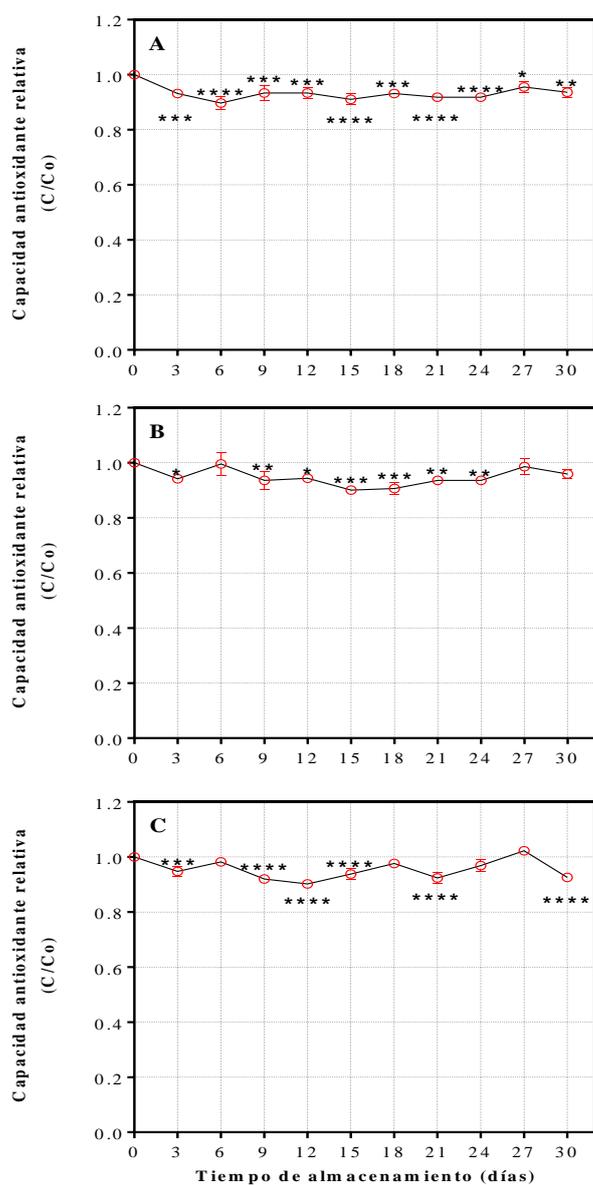


Figura 36. Capacidad antioxidante relativo de la bebida funcional antioxidante durante el almacenamiento a 25 °C (A), 35 °C (B) y 45 °C (C). El porcentaje de inhibición de DPPH a diferentes tiempos (C) se relativizaron respecto al valor inicial (C₀). Los valores mostrados son el promedio \pm SD (n=3). La prueba de Dunnett fue empleada para comparación con el control de tiempo 0 de almacenamiento (* p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001, **** p < 0,0001).

4.2.4. Color de las bebidas durante almacenamiento

El parámetro de color CIELab L de la bebida funcional antioxidante se incrementa con el tiempo de almacenamiento (**Figura 37**). Este incremento se acentúa con la temperatura de almacenamiento, siendo mayor a 45°C (**Figura 37B y 37C**). El valor L a los 30 días de almacenamiento fue significativamente diferente del control (0 días) a 45°C (**Figura 37C**).

El valor de a^* de la bebida funcional antioxidante se incrementó significativamente con el tiempo y la temperatura de almacenamiento, aunque en todas las condiciones alcanzó valores negativos (**Figura 38**). En el caso del parámetro b^* solo mostró un ligero incremento a los 30 días de almacenamiento a 35°C (**Figura 39**). Similar comportamiento al mostrado para b^* se encontró para el valor croma C (**Figura 40**). Contrario a lo observado para el valor a^* , el parámetro h° disminuyó significativamente con el tiempo y la temperatura de almacenamiento (**Figura 41**).

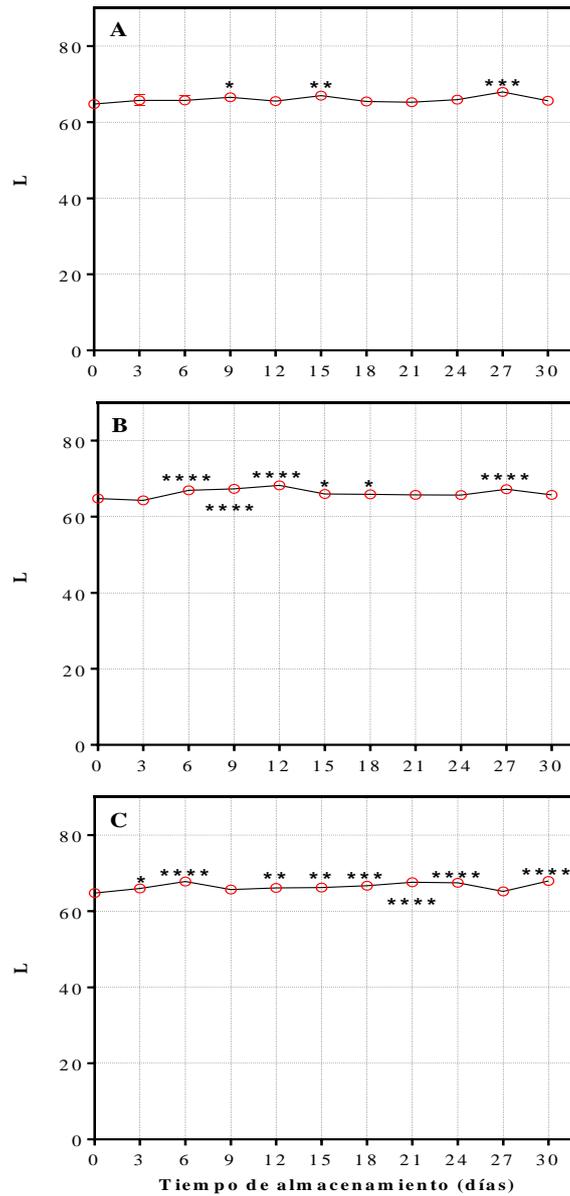


Figura 37. Variación del parámetro de color CIELab L de la bebida funcional antioxidante durante el almacenamiento a 25 °C (A), 35 °C (B) y 45 °C (C). Los valores mostrados son el promedio \pm SD (n=3). La prueba de Dunnett fue empleada para comparación con el control de tiempo 0 de almacenamiento (* p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001, **** p < 0,0001).

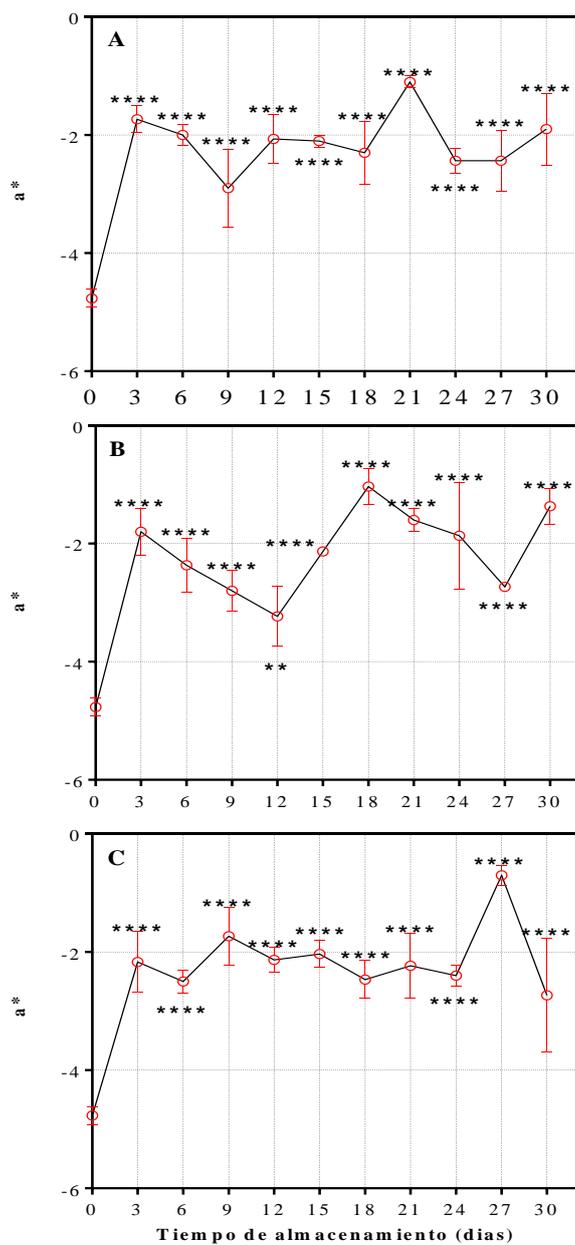


Figura 38. Variación del parámetro de color CIELab a^* de la bebida funcional antioxidante durante el almacenamiento a 25 °C (A), 35 °C (B) y 45 °C (C). Los valores mostrados son el promedio \pm SD (n=3). La prueba de Dunnett fue empleada para

comparación con el control de tiempo 0 de almacenamiento (** $p < 0,01$, **** $p < 0,0001$).

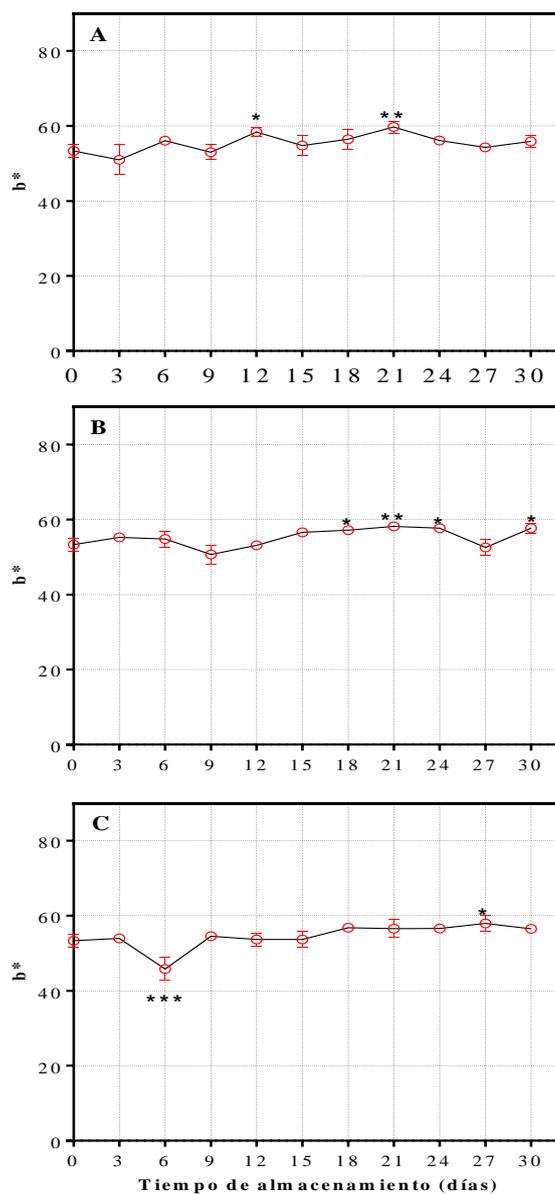


Figura 39. Variación del parámetro de color CIELab b^* de la bebida funcional antioxidante durante el almacenamiento a 25 °C (A), 35 °C (B) y 45 °C (C). Los valores mostrados son el promedio \pm SD (n=3). La prueba de Dunnett fue empleada para comparación con el control de tiempo 0 de almacenamiento (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$).

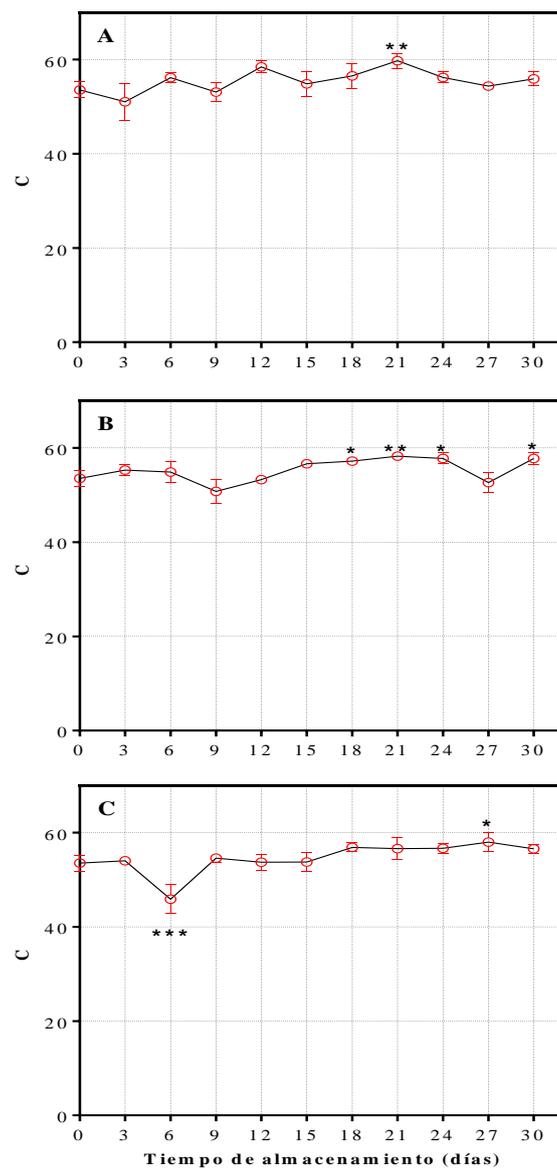


Figura 40. Variación del parámetro de color CIELab croma C de la bebida funcional antioxidante durante el almacenamiento a 25 °C (A), 35 °C (B) y 45 °C (C). Los valores mostrados son el promedio \pm SD (n=3). La prueba de Dunnett fue empleada para comparación con el control de tiempo 0 de almacenamiento (* p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001).

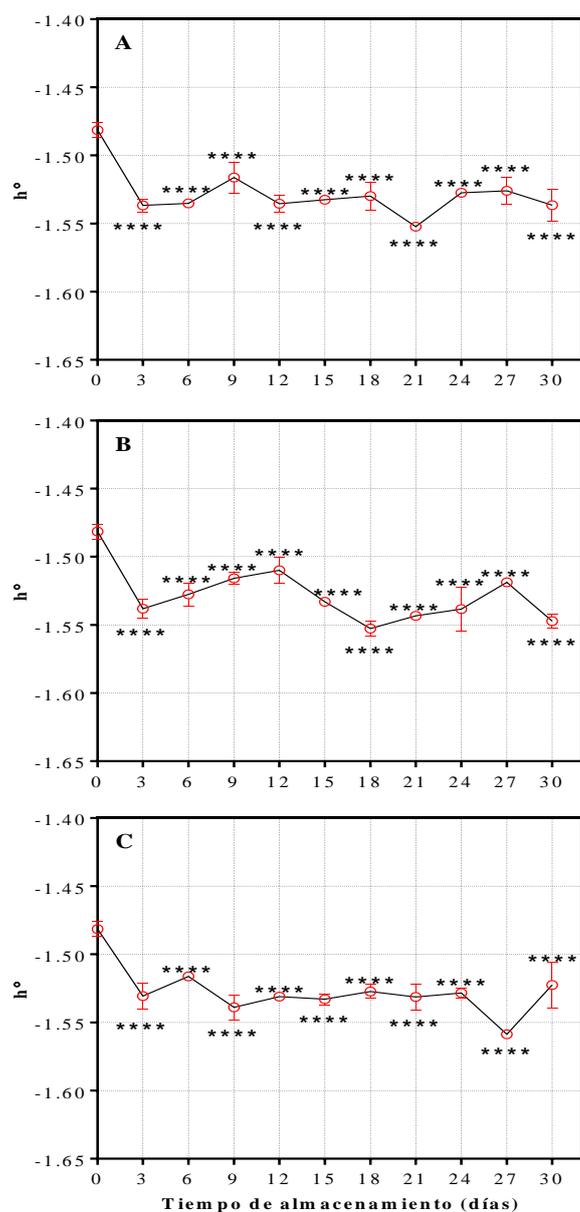


Figura 41. Variación del parámetro de color CIELab h° de la bebida funcional antioxidante durante el almacenamiento a 25 °C (A), 35 °C (B) y 45 °C (C). Los valores mostrados son el promedio \pm SD (n=3). La prueba de Dunnett fue empleada para comparación con el control de tiempo 0 de almacenamiento (**** $p < 0,0001$).

4.2.5. Análisis microbiológico durante el almacenamiento

En la Tabla 22 se reporta el análisis microbiológico de las bebida funcional antioxidante optima a diferentes temperaturas de almacenamiento de 25 °C, 35 °C y 45 °C las cuales fueron evaluados a 0, 3, 6 ,9, 12, 15, 18, 21 , 24, 27 y 30 días, los resultados indican que el tratamiento térmico aplicado fue suficiente para mantener recuentos de microorganismos aerobios por debajo de de 10 unidades formadoras de colonias (ufc) / ml. Asimismo en la Tabla 23 se reporta que existe < 10 ufc/ml para mohos y levaduras. Por tanto se puede deducir que la bebida es estable microbiológicamente. Se ha reportado estudios donde los extractos de noni inhiben el crecimiento de ciertas bacterias, como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus morgani*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella spp.* y *Shigella spp.* (Dittmar 1993, Locher et al., 1995; Leach et al. 1988). Este efecto antimicrobiano puede deberse a la presencia de compuestos fenólicos tales como acubina, L-asperulosida, alizarina, escopoletina y otras antraquinonas (Atkinson 1956). También se ha reportado estudios sobre ado que los extractos de etanol y hexano de noni tener un efecto antituberculoso ya que inhiben el crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis* en un 89-95% (Saludes, Garson, Franzblau, & Aguinaldo, 2002)

Tabla 21

Número de microorganismo aerobios (ufc/ml) de la bebida funcional antioxidante óptima a diferentes temperaturas y tiempos de almacenamiento.

Días	Número de microorganismo aerobios (ufc/ml)		
	Temperatura (°C)		
	25	35	45
0	< 10	< 10	< 10
3	< 10	< 10	< 10
6	< 10	< 10	< 10
9	< 10	< 10	10
12	< 10	< 10	20
15	< 10	10	20
18	< 10	10	20
21	< 10	10	20
24	10	10	20
27	10	10	20
30	10	10	20

Tabla 22

Número de mohos y levaduras (ufc/ml) de la bebida funcional antioxidante óptima a diferentes temperaturas y tiempos de almacenamiento.

Días	Número de microorganismo aerobios (ufc/ml)		
	Temperatura (°C)		
	25	35	45
0	< 10	< 10	< 10
3	< 10	< 10	< 10
6	< 10	< 10	< 10
9	< 10	< 10	< 10
12	< 10	< 10	< 10
15	< 10	< 10	< 10
18	< 10	< 10	< 10
21	< 10	< 10	< 10
24	< 10	< 10	< 10
27	< 10	< 10	< 10
30	< 10	< 10	< 10

CAPITULO V

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1. Discusión

5.1.1. Caracterización fisicoquímica

Los sólidos solubles (°Brix) es utilizado como una medida indirecta del contenido de azúcares de las frutas, el cual cambia durante el proceso de maduración. Sin embargo, la medida de sólidos solubles no representa el contenido exacto de azúcares ya que las frutas pueden contener otros compuestos solubles como los ácidos orgánicos (Thompson, 2003). Los sólidos solubles de la pulpa de mango variedad Edwards ($19,30 \pm 0,06$) fue ligeramente superior al contenido encontrado en mango variedad Keitt con un estado de madurez 6 ($17,0 \pm 0,0$) (Ibarra-Garza, Ramos-Parra, Hernández-Brenes, & Jacobo-Velázquez, 2015). En otro estudio, se ha reportado que el contenido de sólidos solubles varia de 14,5 a 21,6 °Brix según el grado de madurez en

muestra de mango colectado en México (Palafox-Carlos et al., 2012). En la pulpa de noni el contenido de sólidos solubles ($8,40 \pm 0,20$) fue ligeramente inferior al encontrado en muestras maduras colectadas en Horizonte-Brasil ($9,20 \pm 0,40$) (Correia et al., 2012). La pulpa de aguaymanto ($13,8 \pm 0,26$) se correspondió a una muestra con una madurez de 4 a 5 (sólidos solubles de $14,74 \pm 0,6$) según la norma técnica colombiana (Peña, Rodríguez, & Gonzalez, 2015) y aguaymanto fresco-maduro ($13.73-14.30$) (Puente et al., 2011). Se ha establecido que el óptimo estado de madurez del mango para consumo corresponde a muestras con 13-16 °Brix (López-Cobo et al., 2017).

La acidez titulable de la pulpa de mango variedad Edward ($1,58 \pm 0,01$) resultó superior al contenido encontrado en mango variedad Keitt con un estado de madurez 6 ($0,65 \pm 0,01$) (Ibarra-Garza et al., 2015). La acidez titulable de la pulpa de noni ($0,33 \pm 0,01$) fue inferior al reportado para muestras maduras colectadas en Horizonte-Brasil ($0,63 \pm 0,01$) (Correia et al., 2012). La acidez titulable en pulpa de aguaymanto ($1,60 \pm 0,01$) fue igual a una muestra con una madurez de 4 a 5 (acidez titulable $1,65 \pm 0,31$) según la norma técnica colombiana (Peña, Rodríguez, & Gonzalez, 2015). Sin embargo, el valor de acidez titulable resultó superior al reportado para aguaymanto fresco maduro ($1,90-2,10$) (Puente et al., 2011).

El índice de madurez de la pulpa de mango variedad Edward ($IM = 12,24 \pm 0,03$) es superior al contenido encontrado en mango variedad Keitt con un estado de madurez 6 ($0,65 \pm 0,01$) (Ibarra-Garza et al., 2015). En la pulpa de noni el IM ($25,45 \pm 1,49$) es superior al reportado para muestras brasileñas tipificados como maduros ($IM = 14,66 \pm 0,60$) (Correia et al., 2012). En general, el sabor agradable de las frutas está relacionado con el índice de madurez

(Correia et al., 2012). La pulpa de aguaymanto el IM ($8,59 \pm 0,13$) es estadísticamente igual a una muestra con una madurez de 4 a 5 (IM = $9,17 \pm 1,50$) según la norma técnica colombiana (Peña, Rodríguez, & Gonzalez, 2015). Sin embargo, el valor de IM encontrado es superior al reportado para aguaymanto fresco maduro (6.6-7.2) (Puentes et al., 2011).

El valor de pH de la pulpa de mango variedad Edward ($3,24 \pm 0,06$) es inferior al encontrado en mango variedad Keitt con un estado de madurez 6 ($3,9 \pm 0,0$) (Ibarra-Garza et al., 2015) y de 4.1 en muestras con madurez 4 (Palafox-Carlos et al., 2012). En la pulpa de noni el pH ($4,93 \pm 0,05$) es ligeramente superior al reportado para muestras brasileñas tipificados como maduros ($4,25 \pm 0,01$) (Correia et al., 2012). La pulpa de aguaymanto el pH ($3,55 \pm 0,09$) es estadísticamente igual a una muestra con una madurez de 4 a 5 ($3,58 \pm 0,09$) según la norma técnica colombiana (Peña, Rodríguez, & Gonzalez, 2015). En la misma dirección, valores de pH de 3.39 a 3.67 se han reportado en fruta fresca de aguaymanto (Puentes et al., 2011).

En general el grado de madurez de las frutas influye en el contenido de compuestos bioactivos tales como ácido ascórbico, fenólicos totales, carotenoides totales; así como en la capacidad antioxidante (Olivares-Tenorio, Dekker, Verkerk, & van Boekel, 2016).

5.1.2. Compuestos antioxidantes de las pulpas

5.1.2.1. Ácido ascórbico

El contenido de ácido ascórbico en la pulpa de mango variedad Edwards ($143,7 \pm 4,18$ mg de equivalentes de ácido ascórbico/100 mL) fue mayor ($72,4$ mg equivalentes de ácido

ascórbico/100 g) que el reportado en un estudio con alimentos ricos en antioxidantes consumidos en los Estados Unidos (Floegel, Kim, Chung, Koo, & Chun, 2011).

El contenido de ácido ascórbico en la pulpa de mango variedad Edward es ligeramente superior (365.4 ± 11.6 mg/L \sim 1500 mg/kg de muestra seca) al reportado para mango variedad Keitt (1100 mg/Kg muestra seca) (Ibarra-Garza et al., 2015). El contenido de ácido ascórbico es dependiente de la variedad/cultivar de fruta y de la metodología analítica empleada (Olivares-Tenorio et al., 2016). En el presente análisis se utilizó la tira reactiva MQuant (Merck), el cual está basado en la reacción de reducción del ácido molibdofosfórico por acción del ácido ascórbico. De manera similar en un estudio reportado por (Ibarra-Garza et al., 2015) emplearon para medir el contenido de ácido ascórbico un micro-método basado en la reducción del reactivo de Folin previamente validado

Existen diferentes métodos para detectar formas reducidas y oxidadas de ascorbato en células vegetales que incluye HPLC, ensayos de ciclo enzimático utilizando ascorbato oxidasa y ensayos que dependen de la reducción o oxidación de un compuesto que conduce a un cambio de color. A pesar de que los métodos de ensayo de HPLC son más específicos ambos son costosos y requiere de mayor tiempo de análisis, por lo que el número de muestras que puede ser procesado es limitado, se tiene un protocolo para un análisis fácil y rápido de ambas formas oxidadas y reducidas de ascorbato. En este ensayo, el ion férrico se reduce por Ascorbato anion a los metales ferrosos ion, que cuando se combina con α -a ζ -bipiridil forma un complejo medido a una absorbancia característica de 525 nm (Gillespie & Ainsworth, 2007). Sin embargo, el contenido de ácido ascórbico en mango de origen chino de las variedades Tainong, Irwin, JinHwang y Keitt

es $13,47 \pm 0,26$, $23,80 \pm 0,47$, $3,20 \pm 0,08$ y $7,16 \pm 0,54$ mg/100 g de peso fresco, respectivamente (Liu et al., 2013). Asimismo, el grado de madurez afecta el contenido de ácido ascórbico en pulpa de mango; así, una muestra verde contiene 36 mg/100 g de peso seco en tanto que una madura 28 mg/100 g de peso seco (Siriamornpun & Kaewseejan, 2017).

En el caso del aguaymanto existe una alta variabilidad en el contenido de ácido ascórbico, del orden de 50 veces de diferencia. El tenor de ácido ascórbico se ha estimado del orden de 10 a 929 mg/100 g de peso fresco dependiendo del método analítico empleado: comúnmente el de titulación o cromatografía líquida (Olivares-Tenorio et al., 2016). (G Fischer, Ebert, & Lüdders, 1999). El contenido de ácido ascórbico en la pulpa de aguaymanto empleado en el presente trabajo de investigación se encontró en el rango previamente referido ($382,27 \pm 23,56$ mg/L \sim 38,2 mg/100 g de peso fresco). De igual manera, el contenido de ácido ascórbico se encontró en el rango (20-43 mg/100 g) reportado por Puente et al. (2011) y Ramadan (2011). Sin embargo, el contenido de ácido ascórbico en un eco-tipo de aguaymanto colombiano ($\sim 19,8$ mg/100 g) fue inferior al encontrado en el presente trabajo, el cual fue medido por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) (Peña, Rodríguez, & Gonzalez, 2015). Otros factores que pueden influir en el tenor de ácido ascórbico en aguaymanto son la variedad/cultivar y grado de madurez (Olivares-Tenorio et al., 2016).

El tenor de ácido ascórbico en noni ($1668,8 \pm 13,96$ mg/L) fue comparable a los reportados en otros estudios $122,54 \pm 1,35$ mg/100 g (~ 1225 mg/L) (Correia et al., 2012), 113 mg/100 g (1130 mg/L) (West, Deng, & Jensen, 2011). Sin embargo, fue inferior al valor encontrado 250 mg/100 g peso fresco (~ 2500 mg/L) en otros estudios (Motshakeri & Ghazali, 2015; Yang, Gadi,

Paulino, & Thomson, 2010). El noni que son cultivadas en diferentes partes del mundo muestra variación en el tipo y cantidad de fitoquímicos. Estas variaciones podrían estar relacionadas con las diferentes condiciones ambientales durante el crecimiento (temperatura, precipitación, luz solar y suelo) y el estado de cosecha y/o diferencias en las actividades post-cosechas o condiciones (madurez, cosecha, almacenamiento, transporte y procesamiento) (Motshakeri & Ghazali, 2015). Así durante la maduración del noni, entre otros cambios químicos, el contenido de ácido ascórbico se incrementa (aproximadamente 7 veces) cuando el fruto pasa de color verde a blanco, pero se reduce (alrededor de 4 veces) cuando cambia de blanco firme a maduro-suave (Yang et al., 2011, Motshakeri et al. 2015).

5.1.2.2. Fenólicos totales

En relación al contenido de compuestos fenólicos, la pulpa de mango presentó 1.64 ± 0.05 mg GAE/g pulpa (162 ± 5 mg GAE/100 g pulpa) inferior al valor encontrado en un estudio previo 400 mg GAE/100 g base seca (Ibarra-Garza et al., 2015), pero comparable al valor reportado 140 mg GAE/100 g de pulpa (Palafox-Carlos et al., 2012). El contenido de fenólicos totales en mango es dependiente de la variedad, así el contenido de fenólicos totales en variedades Tainong, Irwin, JinHwang y Keitt fueron $139,71 \pm 2,43$, $38,43 \pm 2,45$, $22,27 \pm 0,63$ y $32,06 \pm 1,54$ mg GAE/100 g de peso fresco, respectivamente (Liu et al., 2013). Asimismo, el contenido de fenólicos totales se reduce de $3,27 \pm 0,73$ a $1,11 \pm 0,14$ mg GAE/g de peso seco en muestras de mango verde y maduro, respectivamente (Siriamornpun & Kaewseejan, 2017).

Adicionalmente, la pulpa de mango contiene compuestos fenólicos conjugados la matriz, es decir compuestos que por extracción convencional no pueden ser extraídas. La aplicación de un procedimiento alcalino permite extraer los compuestos fenólicos conjugados (López-Cobo et al., 2017). Se ha encontrado que el contenido de compuestos fenólicos conjugados en pulpa de mango variedades Keitt, Osteen, Sensación es 2.1, 3.8 y 3.1 mg/100 g de peso seco, respectivamente (López-Cobo et al., 2017).

En aguaymanto el tenor de compuestos fenólicos totales (0.34 ± 0.02 mg GAE/g pulpa) son comparables a los valores previamente reportados 0.44 ± 0.09 mg/100 g o 0.39 ± 0.05 mg/100 g (Puente et al., 2011). Los compuestos fenólicos forman parte de un grupo de metanolitos secundarios ampliamente distribuidos en vegetales. Estos compuestos pueden jugar un papel en la inhibición de cáncer entre otros mecanismos gracias a su capacidad antioxidante (Olivares-Tenorio et al., 2016). El contenido de compuestos fenólicos totales en aguaymanto varía ampliamente (2.5-934.9 mg GAE/100 de pulpa). Esta variabilidad puede ser causado por la existencia de diferentes variedades/cultivares/ecotipos, el grado de madurez y el método de análisis (Olivares-Tenorio et al., 2016). El grado de madurez no afecta regularmente el contenido de fenólicos totales en aguaymanto, es decir no se evidencia una relación directa entre madurez y el tenor de fenólicos (Olivares-Tenorio et al., 2016). En relación al método de análisis, comúnmente se suele utilizar el procedimiento colorimétrico de Folin-Ciocalteu o cromatográfico. En método colorimétrico de Folin-Ciocalteu no es específico y mas bien se ha sugerido como una técnica para medir el poder reductor de alimentos (M. Abderrahim et al.,

2016). Asimismo, la presencia de compuestos fenólicos conjugados, los cuales no se extraen en solventes, podrá aumentar la variabilidad en las determinaciones analíticas.

El contenido de compuestos fenólicos (1.77 ± 0.08 mg GAE/g pulpa) en noni resultó inferior a los encontrados en estudios previos $2,17 \pm 0,04$ mg GAE/100 g (Correia et al., 2012), 2 mg GAE/mL de noni (Yang, Paulino, Janke-Stedronsky, & Abawi, 2007), 2.5 mg GAE/mL jugo (Yang et al., 2010). Sin embargo, como previamente se ha discutido, el grado de madurez de la muestra reduce el contenido de compuestos fenólicos (Yang et al., 2011 in Motshakeri et al. 2015).

5.1.2.3. Carotenoides totales

El contenido de carotenoides totales de la pulpa de mango Edwards (3.2 ± 0.02 mg/100 g) fue comparable a los encontrados en muestras de mango variedad Keitt ($6,71 \pm 0,37$) medido por HPLC-DAD (Ibarra-Garza et al., 2015). Asimismo, el valor encontrado en el presente estudio fue comparable a los reportados otras variedades de mango Tainong, Irwin, JinHwang y Keitt ($5,23 \pm 0,06$, $3,70 \pm 0,03$, $2,57 \pm 0,05$ y $6,14 \pm 0,04$ mg β -caroteno/100 g de peso fresco, respectivamente) (Liu et al., 2013). El contenido de carotenoides es significativamente influenciado por el grado de madurez del mango, así se ha reportado un incremento significativo en mango Nam Dokmai de $3,45 \pm 0,12$ mg β -caroteno/g de peso seco en verde a $50,89 \pm 1,19$ mg β -caroteno/g de peso seco en muestras maduras (Siriamornpun & Kaewseejan, 2017).

El tenor de carotenoides totales ($1,18 \pm 0,01$ mg/100 g) de la pulpa de aguaymanto resultó comparable al valor reportado en un estudio previo 1,6 mg/100 de pulpa (Mohamed Fawzy Ramadan, 2011). Se ha reportado la existencia de una gran variabilidad en el contenido de carotenoides en aguaymanto, con valores en el rango de 0,2 a 1074,7 mg β -caroteno/100 g de peso fresco) (Olivares-Tenorio et al., 2016). La variabilidad en el tenor de carotenoides ha sido asociado a las diferentes variedades/cultivares/ecotipos, condiciones de cultivo y estado de madurez como se ha discutido para los otros compuestos bioactivos (Olivares-Tenorio et al., 2016). En relación a la influencia del estado de madurez, en general en muestras de aguaymanto se produce un incremento en el contenido de carotenoides con la madurez (Olivares-Tenorio et al., 2016). Sin embargo, se ha reportado contenidos de carotenoides de 1075 mg β -caroteno/100 g de peso fresco (Briones-Labarca, Giovagnoli-Vicuña, Figueroa-Alvarez, Quispe-Fuentes, & Pérez-Won, 2013) y 1460 mg β -caroteno /100 g de pulpa (Puente et al., 2011). Estos valores sobreestimados podrían, en parte, reflejar solapamiento de espectros que hacen que los valores de absorbancia sean superiores a los valores reales (Olivares-Tenorio et al., 2016). En el presente trabajo de tesis doctoral aplicamos un proceso de desconvolución para evitar este tipo de sobre estimaciones. Este proceso aplicado a los espectros de absorción para mejorar métodos espectrofotométricos para medir carotenoides (Thrane et al., 2015) y betalaínas (Condezo-Hoyos, Abderrahim, Arriba, & Carmen González, 2015) donde existe superposición de picos. Finalmente, como previamente ha sido demostrado (G. Fischer, Ebert, & Lüdders, 2000), el β -

caroteno -responsable del color amarillo de la fruta- es el carotenoide predominante en aguaymanto (Figura 42).

5.1.3. Capacidad antioxidante de las pulpas

El método original de DPPH fue propuesto por Blois (1958), el DPPH es un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa, por lo cual la molécula no se dimeriza, como es el caso de la mayoría de los radicales libres. La deslocalización del electrón también intensifica el color violeta intenso típico del radical, el cual absorbe en metanol a 517 nm. Cuando la solución de DPPH reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno (**Figura 42**), el proceso se traduce en cambio de color del radical que puede ser monitoreado por espectrofotometría..

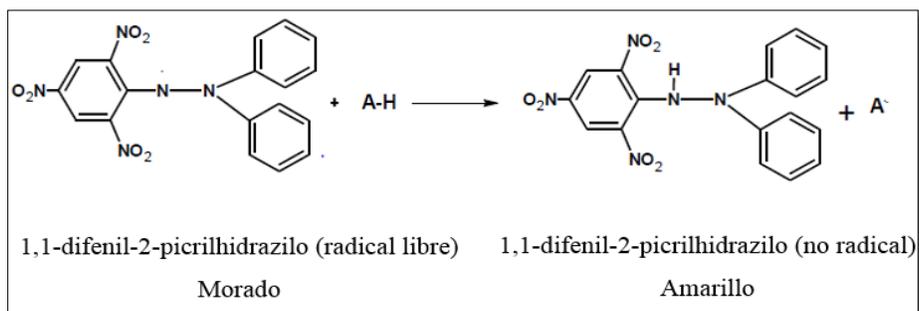


Figura 42. Mecanismo de reacción del DPPH con antioxidantes. El proceso se traduce en cambio de color del radical que puede ser monitoreado por espectrofotometría.

Fuente: (Alam, Bristi, & Rafiquzzaman, 2013)

El método de DPPH es comúnmente usado para medir la capacidad antioxidante de alimentos y plantas a diferentes concentraciones de DPPH, solventes orgánicos y diferentes ratios de antioxidantes/DPPH y tiempos de reacción (Luo, Wang, Wang, Ma, & Li, 2012) (Müller, Fröhlich, & Böhm, 2011); (Ordoudi et al., 2011); (Wootton-Beard, Moran, & Ryan, 2011). La capacidad antioxidante en este método puede ser expresado como: IC₅₀, poder antiradical o valor estequiométrico (Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, 1995); inhibición o el remanente de DPPH (Baydar, Özkan, & Yaşar, 2007); equivalentes de antioxidante estándar como el ácido ascórbico (Lim, Lim, & Tee, 2007); o índice de actividad antioxidante (AAI) o unidad de actividad antioxidante (AAU) aplicado a antioxidantes puros (Scherer & Godoy, 2009) (Deng et al., 2011). En la presente tesis doctoral, la capacidad antioxidante de las pulpas de mango, aguaymanto y noni se midió empleando un micro-método en medio semi-acuoso que evita la influencia del tiempo de reacción del método original (F. Abderrahim et al., 2013).

La capacidad antioxidante de la pulpa de mango, expresado en términos de equivalente (204,24 ± 5,95 mg equivalentes de Trolox/100 mL) fue marcadamente superior al reportado en otro estudio (82,3 mg de equivalente de Trolox/100 g) (Hoyos-Arbeláez, Blandón-Naranjo,

Vázquez, & Contreras-Calderón, 2018). Sin embargo, la capacidad antioxidante del mango depende de la variedad, así en muestras de mango Tainong, Irwin, JinHwang y Keitt ($269,69 \pm 5,72$, $46,13 \pm 2,84$, $28,01 \pm 2,01$ y $40,10 \pm 1,45$ mg de ácido ascórbico equivalente/100 g de peso fresco, respectivamente) (Liu et al., 2013). Estos datos se recalcularon a partir de los datos de capacidad antioxidante originalmente expresados en μmol de equivalentes de Trolox y en base seca.

En la misma dirección que el encontrado en la pulpa de mango, la pulpa de aguaymanto presentó una mayor capacidad antioxidante ($115,94 \pm 2.58$ mg de equivalente de Trolox/100 mL) que el reportado en la literatura científica (52,8 mg de equivalente de Trolox/100 g) (Puente et al., 2011). Sin embargo, como ha sido establecido para los compuestos antioxidantes como el ácido ascórbico, fenólicos totales y carotenoides totales, la capacidad antioxidante del aguaymanto puede presentar una alta variabilidad (Olivares-Tenorio et al., 2016).

Asimismo como lo encontrado para las otras pulpas evaluadas en la presente tesis doctoral, la pulpa de noni demostró una capacidad antioxidante superior al reportado en la literatura científica en términos de equivalentes de Trolox ($480,56 \pm 34,06$ mg/100 mL). Un estudio previo ha reportado la capacidad antioxidante frente al DPPH de ~ 150 mg de equivalente de ácido ascórbico/100 mL (Yang et al., 2010). Un factor importante en la evaluación de la capacidad antioxidante medido por el método de DPPH es el tiempo de reacción, Yang et al (2010) llevó a cabo la reacción muestra-DPPH durante 40 min en metanol. Es conocido que en este medio la reacción suele ser lenta; mientras que, el caso de la metodología micro en medio

semi-acuoso empleado en la presente tesis la reacción se completa en 10 min (F. Abderrahim et al., 2013).

5.1.4. Optimización de la bebida funcional antioxidante mediante la metodología de superficie de respuesta

5.1.4.1. Modelos de regresión

Los modelos de regresión para la variable respuestas de capacidad antioxidante fueron empleadas para determinar la bebida funcional óptima, el modelo cúbico especial ajusta los datos experimentales de capacidad antioxidante de las formulaciones (Tabla 17, $p < 0,0001$ y R^2 ajustado = 0.9467). Para maximizar los efectos se emplean dos variables, la metodología de superficie de respuesta para la optimización considera que ambas variables guardan relación en similitud e importancia. (Calderón-Oliver et al., 2016).

En el caso de los atributos sensoriales se tiene que las bondades de ajuste de los modelos cuadráticos son menores pero significativas (Tablas 18-20, $p < 0,05$) con valores de R^2 ajustado para el color (0.6744), sabor (0.5941) y aceptabilidad (0.6356), similares estudios demuestran lo

reportado por (Karaman, Yilmaz, & Kayacier, 2011). Entonces se puede deducir que el modelamiento de los atributos sensoriales guardan relación con la sensibilidad del panel sensorial.

Para determinar la formulación óptima de la bebida funcional antioxidante se maximizaron la capacidad antioxidante como los atributos sensoriales. En este último caso, dado que la aceptabilidad engloba de manera general las características sensoriales de las formulaciones, fue empleada como variable respuesta a maximizar. Los modelos de regresión para estas variables respuestas fueron empleadas para determinar la bebida funcional óptima. Según Figura 31 se muestra la gráfica de contorno de la capacidad antioxidante y la capacidad antioxidante óptima predicha (22,7356) por la metodología de superficie de respuesta D-Optima.

5.1.5. Efecto de la proporción de pulpas sobre la capacidad antioxidante y los atributos sensoriales

La capacidad antioxidante de la pulpa de mango en el presente estudio ($143,7 \pm 4,18$ mg de equivalentes de ácido ascórbico/100 mL) fue mayor ($72,4$ mg equivalentes de ácido ascórbico/100 g) que el reportado en un estudio con alimentos ricos en antioxidantes consumidos en los Estados Unidos (Floegel et al., 2011). Sin embargo, la capacidad antioxidante del mango depende de la variedad, así en muestras de mango Tainong, Irwin, JinHwang y Keitt ($269,69 \pm 5,72$, $46,13 \pm 2,84$, $28,01 \pm 2,01$ y $40,10 \pm 1,45$ mg de ácido ascórbico equivalente/100 g de peso

fresco, respectivamente) (Liu et al., 2013). Asimismo, el valor de capacidad antioxidante expresado en términos de equivalente ($204,24 \pm 5,95$ mg equivalentes de Trolox/100 mL) fue marcadamente superior al reportado en otro estudio (82,3 mg de equivalente de Trolox/100 g) (Hoyos-Arbeláez et al., 2018). Estos datos se recalcularon a partir de los datos de capacidad antioxidante originalmente expresados en μmol de equivalentes de Trolox y en base seca.

Así mismo la pulpa de aguaymanto presentó una mayor capacidad antioxidante ($115,94 \pm 2,58$ mg de equivalente de Trolox/100 mL) que el reportado en la literatura científica (52,8 mg de equivalente de Trolox/100 g) (Puente et al., 2011). Sin embargo, como ha sido establecido para los compuestos antioxidantes como el ácido ascórbico, fenólicos totales y carotenoides totales, la capacidad antioxidante del aguaymanto puede presentar una alta variabilidad (Olivares-Tenorio et al., 2016).

De la misma forma que lo encontrado para las otras pulpas evaluadas en la presente tesis doctoral, la pulpa de noni demostró una capacidad antioxidante superior al reportado en la literatura científica tanto en términos de equivalentes de Trolox ($480,56 \pm 34,06$ mg/100 mL) y ácido ascórbico ($338,15 \pm 23,96$ mg/100 mL). Un estudio previo ha reportado la capacidad antioxidante frente al DPPH de 150 mg de equivalente de ácido ascórbico/100 mL (Yang et al., 2010). Un factor importante en la evaluación de la capacidad antioxidante medido por el método de DPPH es el tiempo de reacción, Yang et al (2010) llevó a cabo la reacción muestra DPPH durante 40 min en metanol. Es conocido que en este medio la reacción suele ser lenta; mientras

que aplicando la metodología micro en medio semi-acuoso utilizando en la presente tesis la reacción se completa en 10 min (Abderrahim et al., 2013).

Si bien la pulpa de noni tiene mayor capacidad antioxidante su proporción está restringida por sus atributos sensoriales. En las formulaciones se tiene mayor proporción de pulpa de mango por su mayor cantidad de capacidad antioxidante, se encontró un contenido alto de ácido ascórbico para la variedad Jobo, esto indica que es una buena fuente de esta sustancia. Los compuestos fenólicos son los que tiene mayor incidencia. (Ağçam, Akyıldız, & Dündar, 2018) (Yilmaztekin, 2014), (Pino et al., 2009).

5.1.6. Optimización de la bebida funcional antioxidante

La formulación óptima de la bebida funcional antioxidante se maximizo teniendo en cuenta la capacidad antioxidante y sus atributos sensoriales como color sabor y aceptabilidad de la bebida funcional. En este último caso, dado que la aceptabilidad engloba de manera general las características sensoriales de las formulaciones, fue empleada como variable respuesta a maximizar. Los modelos de regresión para estas variables respuestas fueron empleadas para determinar la bebida funcional óptima. En la Figura 31 se reportó la gráfica de contorno de la capacidad antioxidante y la capacidad antioxidante óptima predicha por la metodología de superficie de respuesta D-Optima. La proporción de la pulpa de noni en la bebida fue restringida a un máximo de 10% p/p tomando en cuenta sus atributos sensoriales. La capacidad antioxidante aumenta con la proporción de pulpa de mango en las bebidas formuladas. Este comportamiento

es coherente por el mayor contenido de fenólicos totales, carotenoides y por supuesto con la capacidad antioxidante de la pulpa de mango en comparación con la pulpa de aguaymanto. En la misma dirección, una mayor proporción de la pulpa de mango en las bebidas formuladas mejora los atributos sensoriales de color, sabor y aceptabilidad. Como criterios de calidad (variables respuestas) para la optimización de la formulación de la bebida funcional se tomó en cuenta la capacidad antioxidante y los atributos sensoriales como color, sabor y aceptabilidad. Según (Gironés-Vilaplana et al., 2015) bebida enriquecidas con noni papaya y limón reporta que no solo los compuestos fenólicos son los únicos parámetros antioxidantes, posiblemente en estas frutas existen interacciones en la matriz del alimento que juega un rol importante en el análisis. En un estudio reportado por (Shahidi & Alasalvar, 2016) sobre bebida de mango menciona que también tiene buen aroma y buenos atributos sensoriales, teniendo buena aceptación por los consumidores. Sin embargo sugiere que se debe desarrollar nuevas tecnologías de conservación. y estudios de estabilidad, bioaccesibilidad y biodisponibilidad después de un metabolismo extenso en el cuerpo humano.

5.1.7. Estabilidad en almacenamiento de la bebida funcional antioxidante optimizada

5.1.7.1. Carotenoides totales, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante

Con respecto al contenido relativo de carotenoides totales durante el almacenamiento disminuyó significativamente con el tiempo y la temperatura de almacenamiento. La reducción del tenor de carotenoides totales se evidenció a un menor tiempo de almacenamiento cuando la temperatura

fue mayor. Según (Dutta, 2005) los carotenoides disminuyen con los tratamientos, empaque y condiciones de almacenamiento, la degradación de carotenoides es segmentario así mismo influye la temperatura, es decir que los carotenoides son sensibles al calor, ya que se promueve la isomerización de transcarotenoides a la forma cis, esto se pone en manifiesto en el estudio, en la **Figura 34** se reporta la disminución de carotenoides a diferentes temperaturas de almacenamiento.

Con respecto al contenido relativo de compuesto fenólicos totales **Figura 35** medidos por el método de Folin-Ciocalteu se incrementó con el tiempo de almacenamiento a 35°C y 45°C. El potencial de oxidación del glucósido flavonoide puede incrementarse cuando se compara con la aglicona introduciendo un azúcar en la molécula, y esto puede reducir la actividad antioxidante en sistemas donde la transferencia de electrones es importante. Según estudios reportados por (F. Abderrahim et al., 2011), la hidrólisis enzimática de los flavonoides glicosilados presentes en los cítricos produce un aumento en los valores de contenido de derhamnosylverbascoside, una aglicona verbascósida liberada por hidrólisis ácida de verbascósido. Según (Kim, Shin, & Jang, 2009) estudio la Dangyuja que es un cítrico de la isla de Cheju en Corea, que se sabe que tiene un alto contenido de flavanona, glucósidos, como la naringina y la neohesperidina.

La conversión de glucósidos de flavanona del extracto de Dangyuja en formas hidroxiladas por su tratamiento secuencial con naringinasa, y hesperidinasa, y tratado con *Aspergillus saitoi*, aumenta la capacidad del extracto para eliminar los radicales peroxilo e hidroxilo, lo que indica que las formas hidroxiladas de flavanona agliconas de extracto de Dangyuja demuestran una

mayor actividad antioxidante en la eliminación de radicales peroxilo e hidroxilo que sus glucósidos o agliconas.

En estudio similar se reporta el incremento de polifenoles que aumenta la reactividad (Shahidi y Alasalvar, 2016), el jugo de mango es una fuente de compuestos fenólicos antioxidantes (flavonoles, flavonoles y ácidos fenólicos).

Con respecto a la capacidad antioxidante de la bebida funcional antioxidante óptima disminuyó con el tiempo de almacenamiento, siendo más notorio tal reducción a 45°C. Esta tendencia de reducción fue menor al observado para el contenido de carotenoides. La reducción esta asociado con el contenido de carotenoides como reacción de la alta reactividad a los carotenoides.

Según (Xie & Schaich, 2014) la reacción DPPH se ha utilizado ampliamente para comparar y clasificar la eficacia antioxidante de una amplia gama de extractos naturales en muchos estudios de investigación. No obstante, plantea ciertas recomendaciones para su validez, cuantificación y comparación de la actividad antioxidante con diferentes tamaños y estructuras, y especialmente para clasificar su reactividad relativa debido a que presenta limitaciones significativas.

5.1.7.2. Color

La evolución en los parámetros de color de la bebida funcional durante 30 días de almacenamiento en diferentes condiciones de temperatura de 25°C, 35°C y 45 °C, presento diferencias por efecto de tiempo y temperatura de almacenamiento, el parámetro de color

CIELab L de la bebida funcional antioxidante se incrementa con el tiempo de almacenamiento este incremento se acentúa con la temperatura de almacenamiento, siendo mayor a 45°C. El valor L a los 30 días de almacenamiento fue altamente significativo. Según (Camelo-Mendez, 2012) que estudia el efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el color, reporta que existe una marcada coloración parda en la bebida de *Borojoa patinoi* almacenada a 37 °C por espacio de 17 días, el oscurecimiento general presentado podría indicar el efecto de reacciones no enzimáticas como la reacción de Maillard que es producida entre los azúcares reductores y aminoácidos (Burdurlu & Karadeniz, 2003).

El valor de a* de la bebida funcional antioxidante se incrementó significativamente con el tiempo y la temperatura de almacenamiento, aunque en todas las condiciones alcanzó valores negativos. En el caso del parámetro b* solo mostró un ligero incremento a los 30 días de almacenamiento a una temperatura de 35°C. Similar comportamiento al mostrado para b* se encontró para el valor cromático C donde su máximo valor es a los 21 días de almacenamiento a temperaturas de 25 °C y 35°C El parámetro h° disminuyó significativamente con el tiempo y la temperatura de almacenamiento. Según (Esparza, 2009), existe una relación directa entre la calidad de una bebida como el vino y el CIELAB por lo tanto se pueden proponer parámetros: con menor valores de L * y los valores más altos de a * y C * , y así determinar la calidad de esta bebida.

5.1.7.3. Análisis microbiológico

En la Tabla 22 se reportó el análisis microbiológico de las bebida funcional optima a diferentes temperaturas de almacenamiento de 25 °C, 35 °C y 45 °C las cuales fueron evaluados a 0, 3, 6 ,9, 12, 15, 18, 21 , 24, 27 y 30 días, los resultados indican que el tratamiento térmico aplicado fue suficiente para mantener recuentos de microorganismos aerobios por debajo de de 10 unidades formadoras de colonias (ufc)/ ml. Además estudios evidencian que los extractos de noni inhiben el crecimiento de ciertas bacterias, como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus morgani*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella spp.* y *Shigella spp.* (Dittmar 1993, Locher et al., 1995; Leach et al. 1988). Este efecto antimicrobiano puede deberse a la presencia de compuestos fenólicos tales como acubina, L-asperulosida, alizarina, escopoletina y otras antraquinonas (Chan-Blanco et al., 2006). También se ha encontrado que los extractos de etanol y hexano de noni tienen un efecto antituberculoso ya que inhiben el crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis* en un 89-95% (Saludes et al., 2002). Asimismo en la Tabla 23 se observa que no existe crecimiento bacteriano en ninguna de las placas de recuento total de Bacterias aeróbicas, ni recuento microbiológicos para mohos y levaduras, por tanto se puede deducir que la bebida es estable microbiológicamente.

Estudios reportados atribuyen propiedades analgésicas y sedativas del jugo de noni las cuales se evidencias en experimentos con ratas (Wang et al., 2002)(Según (J. A. Ulloa, Gonzalez Tapia, Rosas Ulloa, Ramirez Ramirez, & Ulloa Rangel, 2015).

De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, al sumergir en jugo de noni los cubos de mango presento un efecto beneficioso con respecto al color durante el almacenamiento. Los

cubos de mango sumergidos en jugo de noni por 5 minutos almacenados por 15 días a 6 °C dieron los mejores resultados en términos microbiológicos y sin degradación de color . (J. A. Ulloa et al., 2015)

5.2. Conclusiones

1. Se diseñó y optimizó una bebida funcional antioxidante (BFA) de pulpa de mango, aguaymanto y noni mediante la metodología de superficie de respuesta (MSR).
2. El contenido de fenólicos totales en pulpa de mango, aguaymanto y noni fueron $1,64 \pm 0,05$, $0,34 \pm 0,02$ y $1,77 \pm 0,08$ (mg ácido gálico/g pulpa), respectivamente. El tenor de carotenoides totales $3,2 \pm 0,02$ y $1,18 \pm 0,010$ mg /100 g muestra en pulpa de mango y aguaymanto, respectivamente. No se encontró carotenoides en la pulpa de noni. El contenido de ácido

ascórbico en pulpa de mango, aguaymanto y noni fueron $365,395 \pm 11,63$, $382,279 \pm 23,56$ y $1668,80 \pm 13,96$ mg ácido ascórbico/100 mL, respectivamente.

3. La BFA óptima se alcanzó con 93%, 0% y 7% de pulpa de mango, aguaymanto y noni, respectivamente, la misma que inhibió 25,58 % del radical libre 2,2-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) y una aceptabilidad sensorial de 7,38.
4. La estabilidad de la BFA óptima en condiciones aceleradas de almacenamiento (25 °C, 35 °C y 45 °C) durante 30 días demostró que: a) el contenido de carotenoides totales y la capacidad antioxidante disminuye en el almacenamiento b) los compuestos fenólicos totales se incrementan durante almacenamiento, c) el número de microorganismos aerobios por debajo de 10 ufc / ml y para el número de mohos y levaduras existe < 10 ufc/ml y d) los parámetros de color CIELab el valor de L y a^* se incrementaron significativamente ($p < 0.05$), en tanto que el valor b^* solo mostró un ligero incremento ($p < 0.05$). El valor cromático C y el parámetro h° disminuyó significativamente con el tiempo y la temperatura de almacenamiento.

5.3. Recomendaciones

Realizar estudios de alimentos funcionales con animales, evaluando parámetros bioquímicos, metabólicos y/o fisiológicos que van a permitir obtener información sobre el impacto de las distintas dietas en diferentes alteraciones metabólicas.

Realizar estudios de causa efecto en seres humanos con ensayos de intervención randomizados y controlados.

Estudios de identificación de la matriz alimentaria en alimentos funcionales.

Realizar campañas publicitarias sobre el efecto benéfico del consumo de alimentos naturales para ser incluidos en la dieta de los consumidores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abderrahim, F., Arribas, S. M., Gonzalez, M. C., & Condezo-Hoyos, L. (2013). Rapid high-throughput assay to assess scavenging capacity index using DPPH. *Food Chemistry*, *141*(2), 788-794. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.055>
- Abderrahim, F., Estrella, S., Susín, C., Arribas, S. M., González, M. C., & Condezo-Hoyos, L. (2011). The antioxidant activity and thermal stability of lemon verbena (*Aloysia triphylla*) infusion. *Journal of medicinal food*, *14*(5), 517-527.
- Abderrahim, M., M. Arribas, S., & Condezo-Hoyos, L. (2016). A novel high-throughput image based rapid Folin-Ciocalteu assay for assessment of reducing capacity in foods. *Talanta*, *152*(Supplement C), 82-89. doi:<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.01.051>
- Abdul Aziz, N. A., Wong, L. M., Bhat, R., & Cheng, L. H. (2012). Evaluation of processed green and ripe mango peel and pulp flours (*Mangifera indica* var. Chokanan) in terms of chemical composition, antioxidant compounds and functional properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *92*(3), 557-563. doi:10.1002/jsfa.4606
- Ağçam, E., Akyıldız, A., & Dündar, B. (2018). Chapter 17 - Thermal Pasteurization and Microbial Inactivation of Fruit Juices A2 - Rajauria, Gaurav. In B. K. Tiwari (Ed.), *Fruit Juices* (pp. 309-339). San Diego: Academic Press.

- Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2), 143-152.
- AOAC. (2005). Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis 15Th. Etl Pub. B y AOAC, Washington D.C.
- Apak, R. a., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2016a). Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(5), 997-1027.
- Apak, R. a., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2016b). Antioxidant activity/capacity measurement. 2. Hydrogen atom transfer (HAT)-based, mixed-mode (electron transfer (ET)/HAT), and lipid peroxidation assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(5), 1028-1045.
- Aranceta, J., & Gil, Á. (2010). Alimentos funcionales y salud en las etapas infantil y juvenil *Alimentos funcionales y salud en las etapas infantil y juvenil*.
- Arrazola P., G., Rojano, B. A., & Diaz D., A. (2013). Capacidad antioxidante de cinco cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) y evaluación de su comportamiento en una matriz alimentaria. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 7, 161-172.
- Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*(494), 161-172.
- Ayala, J., & Pardo, R. (1995). Optimización por diseños experimentales con aplicaciones en ingeniería. *Lima: CONCYTEC*.

- Barranzuela Mendocilla, A. W. (2014). Optimización del secado de rodajas de mango variedad Haden (*Mangífera indica* L.) por combinación de microondas y aire caliente.
- Baş, D., & Boyacı, I. H. (2007). Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 836-845.
- Basar, S., & Westendorf, J. (2011). Identification of (2E, 4Z, 7Z)-decatricienoic acid in noni fruit and its use in quality screening of commercial noni products. *Food Analytical Methods*, 4(1), 57-65.
- Baydar, N. G., Özkan, G., & Yaşar, S. (2007). Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grape extracts. *Food control*, 18(9), 1131-1136.
- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Bidlack Wayne R., Omaye Stanley T, Meskin Mark S, & Topham Debra K. W. . (2000). *PHYTOCHEMICALS AS BIOACTIVE AGENTS*.
- Biehler, E., Mayer, F., Hoffmann, L., Krause, E., & Bohn, T. (2010). Comparison of 3 spectrophotometric methods for carotenoid determination in frequently consumed fruits and vegetables. *J Food Sci*, 75(1), C55-61. doi:10.1111/j.1750-3841.2009.01417.x
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. doi:[https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Briones-Labarca, V., Giovagnoli-Vicuña, C., Figueroa-Alvarez, P., Quispe-Fuentes, I., & Pérez-Won, M. (2013). Extraction of β -carotene, vitamin C and antioxidant compounds from

- Physalis peruviana (Cape Gooseberry) assisted by high hydrostatic pressure. *Food and Nutrition Sciences*, 4(08), 109.
- Burdurlu, H. S., & Karadeniz, F. (2003). Effect of storage on nonenzymatic browning of apple juice concentrates. *Food Chemistry*, 80(1), 91-97.
- Calderón-Oliver, M., Escalona-Buendía, H. B., Medina-Campos, O. N., Pedraza-Chaverri, J., Pedroza-Islas, R., & Ponce-Alquicira, E. (2016). Optimization of the antioxidant and antimicrobial response of the combined effect of nisin and avocado byproducts. *LWT - Food Science and Technology*, 65(Supplement C), 46-52.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.048>
- Camelo-Mendez, G., & Sotelo Diaz, L. (2012). Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el color, contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de una bebida de Borojoa patinoi Cuatrecasas. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 11 (2), 196-205.
- Castañeda, B. C., Llica, E. R., & Vasquez, L. I. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Horizonte Médico*, 8(1), 56-72.
- Challem, J., & Block, M., (2008) Antioxidantes Naturales Guías de Practicas de Salud Nutrifarmacia y Medicina Natural., Madrid- España., NOWTILUS. (2008).
Antioxidantes Naturales
- Chan-Blanco, Y., Vaillant, F., Perez, A. M., Reynes, M., Brillouet, J.-M., & Brat, P. (2006). The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 645-654.

- Chasquibol, N., Lengua, L., Delmás, I., Rivera, D., Bazán, D., Aguirre, R., & Bravo, M. (2003). Alimentos funcionales o fitoquímicos, clasificación e importancia. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 6(2), 9-20.
- Condezo-Hoyos, L., Abderrahim, F., Arriba, S. M., & Carmen González, M. (2015). A novel, micro, rapid and direct assay to assess total antioxidant capacity of solid foods. *Talanta*, 138, 108-116. doi:<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.01.043>
- Correia, A. A. d. S., Gonzaga, M. L. d. C., Aquino, A., Souza, P., Figueiredo, R., & Maia, G. A. (2012). Caracterização química e físico-química da polpa do noni (*morinda citrifolia*) cultivado no estado do Ceará. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 22(4), 609-615.
- De la Rosa, L. A., Alvarez-Parrilla, E., & González-Aguilar, G. A. (2009). *Fruit and vegetable phytochemicals : chemistry, nutritional value and stability* (1. ed. ed.): Ames.
- Deng, J., Cheng, W., & Yang, G. (2011). A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. *Food Chemistry*, 125(4), 1430-1435. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.031>
- Dragovic-Uzelac, V., Levaj, B., Mrkic, V., Bursac, D., & Boras, M. (2007). The content of polyphenols and carotenoids in three apricot cultivars depending on stage of maturity and geographical region. *Food Chemistry*, 102(3), 966-975.
- Dussossoy, E., Brat, P., Bony, E., Boudard, F., Poucheret, P., Mertz, C., . . . Michel, A. (2011). Characterization, anti-oxidative and anti-inflammatory effects of Costa Rican noni juice (*Morinda citrifolia* L.). *Journal of Ethnopharmacology*, 133(1), 108-115.

- Dutta, D., Chaudhuri, U. R., & Chakraborty, R. (2005). Structure, health benefits, antioxidant property and processing and storage of carotenoids. . *African Journal of Biotechnology*, 4(13).
- Esparza, I., Santamaria, C., Calvo, I. S. A. B. E. L., & Fernandez, J. M. . (2009). Significance of CIELAB parameters in the routine analysis of red wines Relevancia de los parámetros CIELAB en el análisis de rutina de vinos tintos. *CyTA–Journal of Food*, 7(3),.
- FAOSTAT, F. (2009). Statistical databases. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*.
- Fischer, G., Ebert, G., & Lüdders, P. (1999). *Provitamin A carotenoids, organic acids and ascorbic acid content of cape gooseberry (Physalis peruviana L.) ecotypes grown at two tropical altitudes*. Paper presented at the II ISHS Conference on Fruit Production in the Tropics and Subtropics 531.
- Fischer, G., Ebert, G., & Lüdders, P. (2000). *Provitamin a carotenoids, organic acids and ascorbic acid content of cape gooseberry (Physalis peruviana l.) Ecotypes grown at two tropical altitudes*.
- Floegel, A., Kim, D.-O., Chung, S.-J., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 1043-1048.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008>
- Gillespie, K. M., & Ainsworth, E. A. (2007). Measurement of reduced, oxidized and total ascorbate content in plants. *Nature Protocols*, 2(4), 871.

- Gironés-Vilaplana, A., Valentão, P., Andrade, P. B., Ferreres, F., Moreno, D. A., & García-Viguera, C. (2015). Beverages of lemon juice and exotic noni and papaya with potential for anticholinergic effects. *Food Chemistry*, *170*(Supplement C), 16-21. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.021>
- Gómez Ruiz, B., Roux, S., Courtois, F., & Bonazzi, C. (2018). Kinetic modelling of ascorbic and dehydroascorbic acids concentrations in a model solution at different temperatures and oxygen contents. *Food Research International*, *106*, 901-908. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.051>
- Gunathilake, K. D. P. P., Rupasinghe, H. P. V., & Pitts, N. L. (2013). Formulation and characterization of a bioactive-enriched fruit beverage designed for cardio-protection. *Food Research International*, *52*(2), 535-541. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.051>
- Guo, M. (2009). Chapter 2 - ANTIOXIDANTS AND ANTIOXIDANT RICH FOODS *Functional Foods* (pp. 9-61): Woodhead Publishing.
- Halliwell, B. (1996). Antioxidants in human health and disease. *Annual review of nutrition*, *16*(1), 33-50.
- Haminiuk, C. W., Maciel, G. M., Plata-Oviedo, M. S., & Peralta, R. M. (2012). Phenolic compounds in fruits—an overview. *International Journal of Food Science & Technology*, *47*(10), 2023-2044.

- Hasler, C. M. (2002). Functional foods: benefits, concerns and challenges—a position paper from the American Council on Science and Health. *The Journal of nutrition*, 132(12), 3772-3781.
- Hernandez, L. A. M. (2007). *Diseño y evaluación de una bebida funcional en base a cranberry prebiótico y probiótico*. Universidad de Chile, Chile.
- Herrera, J. C., & Abreu, J. L. (2008). *Cómo gestionar la responsabilidad social en las pymes Colombianas*. Revista Daena (International Journal of Good Conscience), 3(1).
- Hoyos-Arbeláez, J., Blandón-Naranjo, L., Vázquez, M., & Contreras-Calderón, J. (2018). Antioxidant capacity of mango fruit (*Mangifera indica*). An electrochemical study as an approach to the spectrophotometric methods. *Food Chemistry*, 266, 435-440. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.044>
- Ibarra-Garza, I. P., Ramos-Parra, P. A., Hernández-Brenes, C., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2015). Effects of postharvest ripening on the nutraceutical and physicochemical properties of mango (*Mangifera indica* L. cv Keitt). *Postharvest Biology and Technology*, 103(Supplement C), 45-54. doi:<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.02.014>
- INEI. (2009). Estimaciones y Proyecciones de Población Urbana y Rural por sexo y edades quinquenales según departamento 2000-2015. Boletín Especial N° 19, Diciembre.
- Kabat, G. C., Kim, M., Adams-Campbell, L. L., Caan, B. J., Chlebowski, R. T., Neuhaus, M. L., . . . Rohan, T. E. (2009). Longitudinal study of serum carotenoid, retinol, and tocopherol concentrations in relation to breast cancer risk among postmenopausal women. *The American journal of clinical nutrition*, 90(1), 162-169.

- Karaman, S., Yilmaz, M. T., & Kayacier, A. (2011). Simplex lattice mixture design approach on the rheological behavior of glucomannan based salep-honey drink mixtures: An optimization study based on the sensory properties. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1319-1326. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.12.007>
- Kaur, C., & Kapoor, H. C. (2001). *Antioxidants in fruits and vegetables - The millennium's health* International Journal of Food Science and Technology, 36, 703 - 725
- Kilcast, D., & Subramaniam, P. (2011). *Food and beverage stability and shelf life*: Elsevier. Woodhead Publishing. Philadelphia.
- Kim, G.-N., Shin, J.-G., & Jang, H.-D. (2009). Antioxidant and antidiabetic activity of Dangyuja (Citrus grandis Osbeck) extract treated with *Aspergillus saitoi*. *Food Chemistry*, 117(1), 35-41.
- Kobori, C. N. (2010). Composição e estabilidade de carotenoides em alimentos. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Brasil
- Kuehl, R. O. (2000). *Designs of experiments: statistical principles of research design and analysis*: Duxbury Press.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*, 25(4), 726-732.
- Lim, Y. Y., Lim, T. T., & Tee, J. J. (2007). Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chemistry*, 103(3), 1003-1008. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.038>

- Liu, F.-X., Fu, S.-F., Bi, X.-F., Chen, F., Liao, X.-J., Hu, X.-S., & Wu, J.-H. (2013). Physico-chemical and antioxidant properties of four mango (*Mangifera indica* L.) cultivars in China. *Food Chemistry*, *138*(1), 396-405. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.111>
- Liyana-Pathirana, C., & Shahidi, F. (2005). Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. *Food Chemistry*, *93*(1), 47-56. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.050>
- López-Cobo, A., Verardo, V., Diaz-de-Cerio, E., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., & Gómez-Caravaca, A. M. (2017). Use of HPLC- and GC-QTOF to determine hydrophilic and lipophilic phenols in mango fruit (*Mangifera indica* L.) and its by-products. *Food Research International*, *100*(Part 3), 423-434. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.02.008>
- Lunet, N., Valbuena, C., Carneiro, F., Lopes, C., & Barros, H. (2006). Antioxidant vitamins and risk of gastric cancer: a case-control study in Portugal. *Nutrition and cancer*, *55*(1), 71-77.
- Luo, L., Wang, R., Wang, X., Ma, Z., & Li, N. (2012). Compounds from *Angelica keiskei* with NQO1 induction, DPPH scavenging and α -glucosidase inhibitory activities. *Food Chemistry*, *131*(3), 992-998. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.099>
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, *79*(5), 727-747.

- Mancera Apolinar, J. A. (2010). *Diseño de una pulpa funcional de frutas y hortalizas con propiedades antioxidantes y probióticas* Universidad Nacional de Colombia - Bogotá. Retrieved from www.bdigital.unal.edu.co/3138/
- Marinova, G., & Batchvarov, V. (2011). *Evaluation of the methods for determination of the free radical scavenger activity by DPPH* (Vol. 17).
- Martínez-Navarrete, N., del Mar Camacho Vidal, M., & José Martínez Lahuerta, J. (2008). Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Actividad Dietética*, 12(2), 64-68. doi:[https://doi.org/10.1016/S1138-0322\(08\)75623-2](https://doi.org/10.1016/S1138-0322(08)75623-2)
- Mateos-Martín, M. L. (2013). Relación estructura/actividad de proantocianidinas procedentes de fuentes naturales de origen vegetal.
- Mditshwa, A., Magwaza, L. S., Tesfay, S. Z., & Opara, U. L. (2017). Postharvest factors affecting vitamin C content of citrus fruits: A review. *Scientia Horticulturae*, 218, 95-104. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.02.024>
- Meléndez-Martínez, A. J., Vicario, I. M., & Heredia, F. J. (2007). Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 57(2), 109-117.
- Meléndez Martínez, A. J., Vicario Romero, I., & Heredia, F. J. (2004). Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 54 (2), 209-215.
- Mikhak, B., Hunter, D. J., Spiegelman, D., Platz, E. A., Wu, K., Erdman Jr, J. W., & Giovannucci, E. (2008). Manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene

- polymorphism, interactions with carotenoid levels and prostate cancer risk. *Carcinogenesis*, 29(12), 2335-2340.
- Milan, N., Rosa, M., & Villarroel, M. (2009). Responsabilidad Social y Medio Ambiente. El Rol del Estado. Trabajo Final para la obtención de título de Master en Gerencia y Administración, UDELAR, Setiembre
- Montgomery, D. C. (1991). *Diseño y análisis de experimentos*: Grupo Editorial Iberoamérica.
- Motshakeri, M., & Ghazali, H. M. (2015). Nutritional, phytochemical and commercial quality of Noni fruit: A multi-beneficial gift from nature. *Trends in Food Science & Technology*, 45(1), 118-129. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.06.004>
- Müller, L., Fröhlich, K., & Böhm, V. (2011). Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay (α TEAC), DPPH assay and peroxy radical scavenging assay. *Food Chemistry*, 129(1), 139-148.
- Muñoz Jáuregui, A. M., Ramos-Escudero, D. F., Alvarado-Ortiz Ureta, C., & Castañeda Castañeda, B. (2007). Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 73(3), 142-149.
- Myers, R., Montgomery, D., & Anderson-Cook, C. (2002). Response surface methodology: Process and product optimization using designed experiments. John Wiley & Sons, New York. *Response surface methodology: Process and product optimization using designed experiments. 2nd ed. John Wiley & Sons, New York., -.*

- Navarro, J. M., Flores, P., Garrido, C., & Martinez, V. (2006). Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. *Food Chemistry*, *96*(1), 66-73.
- Olagnero, G., Genevois, C., Irei, V., Marcenado, J., & Bendersky, S. (2007). Alimentos funcionales: conceptos, definiciones y marco legal global. *Diaeta (B. Aires)*, *25*(119), 33-41.
- Olivares-Tenorio, M.-L., Dekker, M., Verkerk, R., & van Boekel, M. A. J. S. (2016). Health-promoting compounds in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.): Review from a supply chain perspective. *Trends in Food Science & Technology*, *57*(Part A), 83-92.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.09.009>
- Ordóñez-Santos, L. E., & Yoshioka-Tamayo, L. S. (2012). Cinética de degradación térmica de vitamina C en pulpa de mango (*Mangifera indica* L). *Vitae*, *19*(1), S81-S83.
- Ordoudi, S. A., Tsermentseli, S. K., Nenadis, N., Assimopoulou, A. N., Tsimidou, M. Z., & Papageorgiou, V. P. (2011). Structure-radical scavenging activity relationship of alkannin/shikonin derivatives. *Food Chemistry*, *124*(1), 171-176.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.004>
- Palafox-Carlos, H., Yahia, E., Islas-Osuna, M. A., Gutierrez-Martinez, P., Robles-Sánchez, M., & González-Aguilar, G. A. (2012). Effect of ripeness stage of mango fruit (*Mangifera indica* L., cv. Ataulfo) on physiological parameters and antioxidant activity. *Scientia Horticulturae*, *135*(Supplement C), 7-13.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.11.027>

- Patel, D., Dufour, Y., & Domigan, N. (2008). Functional food and nutraceutical registration processes in Japan and China: a diffusion of innovation perspective. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, *11*(4), 1-11.
- Peleg, M., Normand, M. D., Dixon, W. R., & Goulette, T. R. (2018). Modeling the degradation kinetics of ascorbic acid. *Crit Rev Food Sci Nutr*, *58*(9), 1478-1494. doi:10.1080/10408398.2016.1264360
- Peña, F., Rodríguez, M. C., & Gonzalez, J. H. G. (2015). Uchuva mínimamente procesada impregnada al vacío con calcio y vitaminas b9, dye. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA*, *13*(1), 110-119.
- Pérez Espinoza, María José, Espinoza Carrión, Cacibel, & Peralta Mocha, Beatriz. (2016). La responsabilidad social empresarial y su enfoque ambiental: una visión sostenible a futuro. *Revista Universidad y Sociedad*, *8*(3), 169-178.
- Persson, C., Sasazuki, S., Inoue, M., Kurahashi, N., Iwasaki, M., Miura, T., . . . Group, J. S. (2008). Plasma levels of carotenoids, retinol and tocopherol and the risk of gastric cancer in Japan: a nested case-control study. *Carcinogenesis*, *29*(5), 1042-1048.
- Pino, J. A., Márquez, E., & Castro, D. (2009). Volatile and non-volatile acids of noni (*Morinda citrifolia* L.) fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *89*(7), 1247-1249.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. H. (2001). *Antioxidants in food: practical applications*: CRC press.
- Preciado, G. F. (2003). Optimización de una Superficie de Respuesta utilizando JMP IN. *Mosaicos Matemáticos*, *11*, 17-23.

- Puente, L. A., Pinto-Muñoz, C. A., Castro, E. S., & Cortés, M. (2011). *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. *Food Research International*, 44(7), 1733-1740. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.034>
- Ramadan, M. F. (2011). Bioactive phytochemicals, nutritional value, and functional properties of cape gooseberry (*Physalis peruviana*): An overview. *Food Research International*, 44(7), 1830-1836. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.042>
- Ramadan, M. F., & Morsel, J.-T. (2004). Goldenberry, a novel fruit source of fat-soluble bioactives-A minor fruit of the Andes is gaining international popularity. *Inform-International News on Fats Oils and Related Materials*, 15(2), 130-131.
- Ramírez, T., & Anibar, W. (2015). Características y propiedades funcionales de *Physalis peruviana* “Aguaymanto”.
- Rengifo Laurell, D. (2008). Respuesta de substratos orgánicos e inorgánicos en el crecimiento del noni (*Morinda citrifolia*. Linn) durante la etapa de vivero en Pucallpa.
- Roberfroid, M. B. (2002). Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87(S2), S139-S143. doi:10.1079/BJN/2002529
- Saci, F., Meziat, L., & Louaileche, H. (2015). Effect of storage time and temperature on the health-promoting substances and antioxidant activity of two commercial fruit based-beverages. *International Journal of Bioinformatics and Biomedical Engineering*, 1(2), 118-122.
- Saito, M. (2007). Role of FOSHU (food for specified health uses) for healthier life. *Yakugaku zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 127(3), 407-416.

- Salamanca, G., Osorio, M. P., & Montoya, L. M. (2010). Elaboración de una bebida funcional de alto valor biológico a base de borojó (*Borojoa patinoi* Cuatrec). *Revista chilena de nutrición*, 37(1), 87-96.
- Saludes, J. P., Garson, M. J., Franzblau, S. G., & Aguinaldo, A. M. (2002). Antitubercular constituents from the hexane fraction of *Morinda citrifolia* Linn.(Rubiaceae). *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 16(7), 683-685.
- Sánchez-Moreno, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science and technology international*, 8(3), 121-137.
- Scherer, R., & Godoy, H. T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112(3), 654-658.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.026>
- Seeram, N. P., Aviram, M., Zhang, Y., Henning, S. M., Feng, L., Dreher, M., & Heber, D. (2008). Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol-rich beverages in the United States. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(4), 1415-1422.
- Shahidi, F. (2009). Nutraceuticals and functional foods: Whole versus processed foods. *Trends in Food Science & Technology*, 20(9), 376-387.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.08.004>
- Shahidi, F., & Alasalvar, C. (2016). *Handbook of Functional Beverages and Human Health* (Vol. 11): CRC Press.

- Siriamornpun, S., & Kaewseejan, N. (2017). Quality, bioactive compounds and antioxidant capacity of selected climacteric fruits with relation to their maturity. *Scientia Horticulturae*, 221(Supplement C), 33-42. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.04.020>
- Skinner, M., & Hunter, D. (2013). *Bioactives in fruit: health benefits and functional foods*: John Wiley & Sons.
- Thirukkumar, S., Vennila, P., & Kanchana, S. (2018). Physico-chemical characteristics of noni fruit juice blended squashes during storage. *IJCS*, 6(1), 449-455.
- Thompson, A. (2003). *Fruit and vegetables: Harvesting, Handling and Storage*. Blackwell Publishing, 445.
- Thomson, C. A., Neuhouser, M. L., Shikany, J. M., Caan, B. J., Monk, B. J., Mossavar-Rahmani, Y., . . . Anderson, G. L. (2008). The role of antioxidants and vitamin A in ovarian cancer: results from the Women's Health Initiative. *Nutrition and cancer*, 60(6), 710-719.
- Thrane, J. E., Kyle, M., Striebel, M., Haande, S., Grung, M., Rohrlack, T., & Andersen, T. (2015). Spectrophotometric Analysis of Pigments: A Critical Assessment of a High-Throughput Method for Analysis of Algal Pigment Mixtures by Spectral Deconvolution. *PLoS One*, 10(9), e0137645. doi:10.1371/journal.pone.0137645
- Tiwari, B. K., Brunton, N. P., & Brennan, C. S. (2013). *Handbook of Plant Food Phytochemicals*.
- Ulloa, J. A., Gonzalez Tapia, N. T., Rosas Ulloa, P., Ramirez Ramirez, J. C., & Ulloa Rangel, B. E. (2015). Effect of soaking in noni (*Morinda citrifolia*) juice on the microbiological and

- color behavior of Haden minimally processed mango. *J Food Sci Technol*, 52(5), 3079-3085. doi:10.1007/s13197-014-1371-1
- Ulloa, J. A., Ulloa, P. R., Ramírez, J. C. R., & Rangel, B. E. U. (2012). El noni: propiedades, usos y aplicaciones potenciales. *Revista Fuente Año*, 4(10).
- Urquiza-Martínez, M. V., & Fenton Navarro, B. (2016). Antioxidant Capacity of Food. *Free Radicals & Antioxidants*, 6(1).
- Valenzuela, A., Valenzuela, R., Sanhueza, J., & Morales, G. (2014). Alimentos funcionales, nutraceúticos y foshu:¿ vamos hacia un nuevo concepto de alimentación? *Revista chilena de nutrición*, 41(2), 198-204.
- Vallaes, F. (2008). " *Responsabilidad Social Universitaria*": Una nueva filosofía de gestión ética e inteligentes para las universidades. *Revista Educación Superior y Sociedad (ESS)* ISSN: 0798-1228, 13(2), 191-220.
- Van Bree, I., Baetens, J. M., Samapundo, S., Devlieghere, F., Laleman, R., Vandekinderen, I., . . . De Meulenaer, B. (2012). Modelling the degradation kinetics of vitamin C in fruit juice in relation to the initial headspace oxygen concentration. *Food Chemistry*, 134(1), 207-214. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.096>
- Vasiljevic, T., & Shah, N. P. (2008). Probiotics—From Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, 18(7), 714-728. doi:<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.004>
- Villanueva-Tiburcio, J. E., Condezo-Hoyos, L. A., & Asquieri, E. R. (2010). Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante, en la cáscara de camu-camu (*Myrciaria dubia* (HBK) McVaugh). *Food Science and Technology*, 30, 151-160.

- Wall-Medrano, A., Olivas-Aguirre, F. J., Velderrain-Rodríguez, G. R., González-Aguilar, A., de la Rosa, L. A., López-Díaz, J. A., & Álvarez-Parrilla, E. (2015). El mango: aspectos agroindustriales, valor nutricional/funcional y efectos en la salud. *Nutricion hospitalaria*, 31(1).
- Wang, M.-Y., West, B. J., Jensen, C. J., Nowicki, D., Su, C., Palu, A. K., & Anderson, G. (2002). *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in Noni research. *Acta Pharmacologica Sinica*, 23(12), 1127-1141.
- West, B. J., Deng, S., & Jensen, C. J. (2011). Nutrient and phytochemical analyses of processed noni puree. *Food Research International*, 44(7), 2295-2301.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.038>
- Wildman. (2007). *Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods* (Second Edition ed.).
- Wootton-Beard, P. C., Moran, A., & Ryan, L. (2011). Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. *Food Research International*, 44(1), 217-224.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.033>
- Xie, J., & Schaich, K. (2014). Re-evaluation of the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical (DPPH) assay for antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(19), 4251-4260.
- Yamada, K., Sato-Mito, N., Nagata, J., & Umegaki, K. (2008). Health claim evidence requirements in Japan. *The Journal of nutrition*, 138(6), 1192S-1198S.

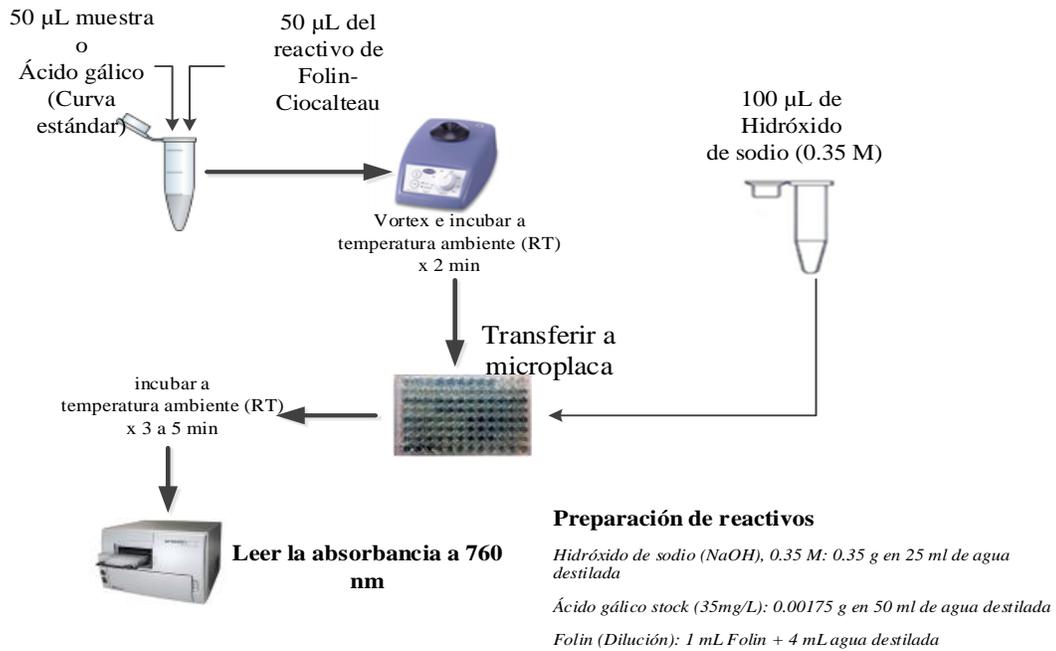
- Yang, J., Gadi, R., Paulino, R., & Thomson, T. (2010). Total phenolics, ascorbic acid, and antioxidant capacity of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder as affected by illumination during storage. *Food Chemistry*, *122*(3), 627-632.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.022>
- Yang, J., Paulino, R., Janke-Stedronsky, S., & Abawi, F. (2007). Free-radical-scavenging activity and total phenols of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder in processing and storage. *Food Chemistry*, *102*(1), 302-308.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.020>
- Yilmaztekin, M. (2014). *Characterization of Potent Aroma Compounds of Cape Gooseberry (Physalis Peruviana L.) Fruits Grown in Antalya Through the Determination of Odor Activity Values* (Vol. 17).
- Yu, H., & Bogue, J. (2013). Concept optimisation of fermented functional cereal beverages. *British Food Journal*, *115*(4), 541-563.

ANEXOS

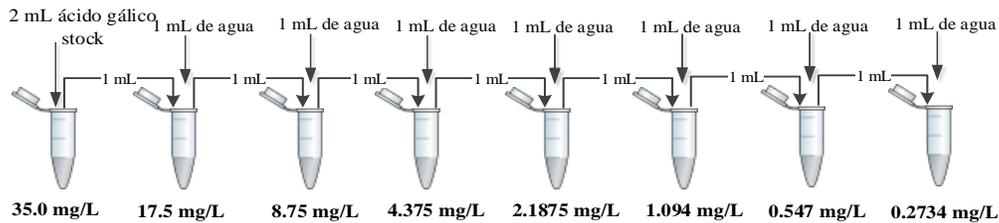
Anexo A

PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES

Protocolo Polifenoles totales



Dilución seriada: Curva estándar



Referencia

- Magalhães, L.M.; Santos, F.; Segundo, M.A.; Reis, S.; Lima, J.L.F.C. (2010). Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity. *Talanta*, 83(2), 441-447
- Abderrahim, M., M. Arribas, S., & Condezo-Hoyos, L. (2016). A novel high-throughput image based rapid Folin-Ciocalteu assay for assessment of reducing capacity in foods. *Talanta*, 152(Supplement C), 82-89.

Anexo B

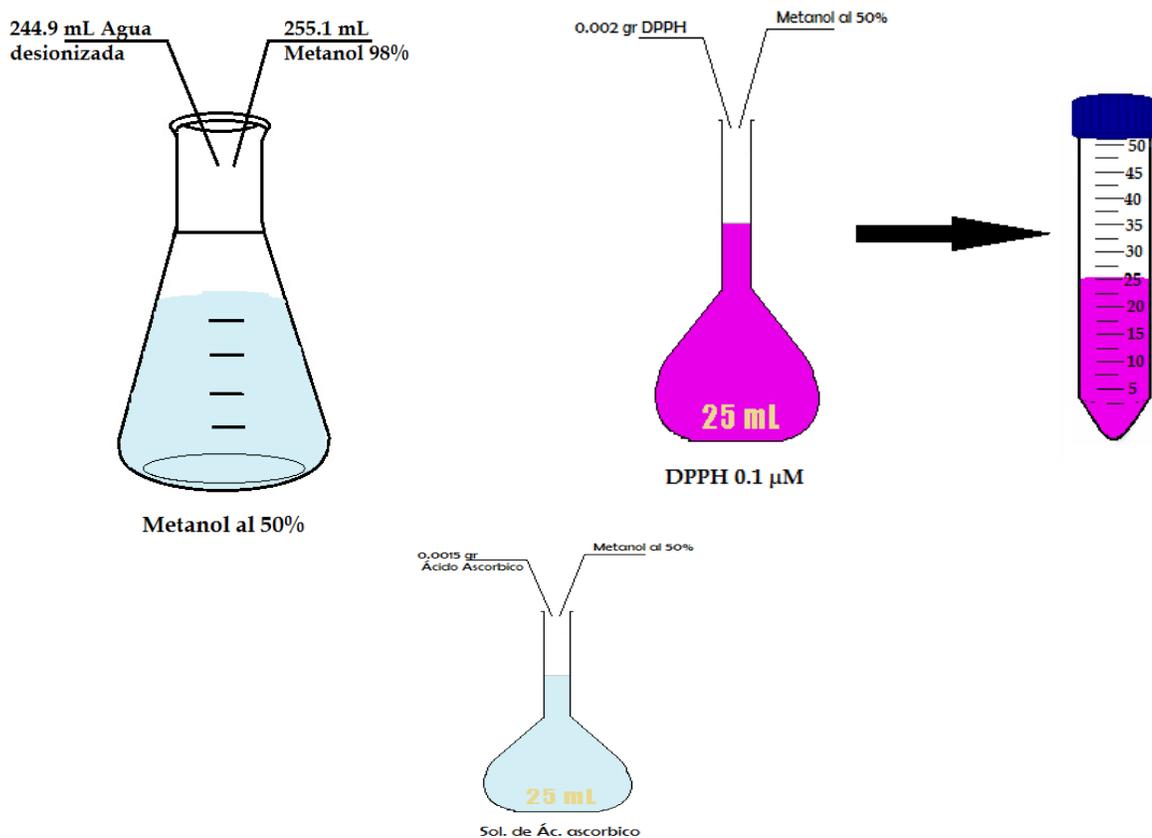
PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DPPH

➤ PREPARACIÓN DE REACTIVOS

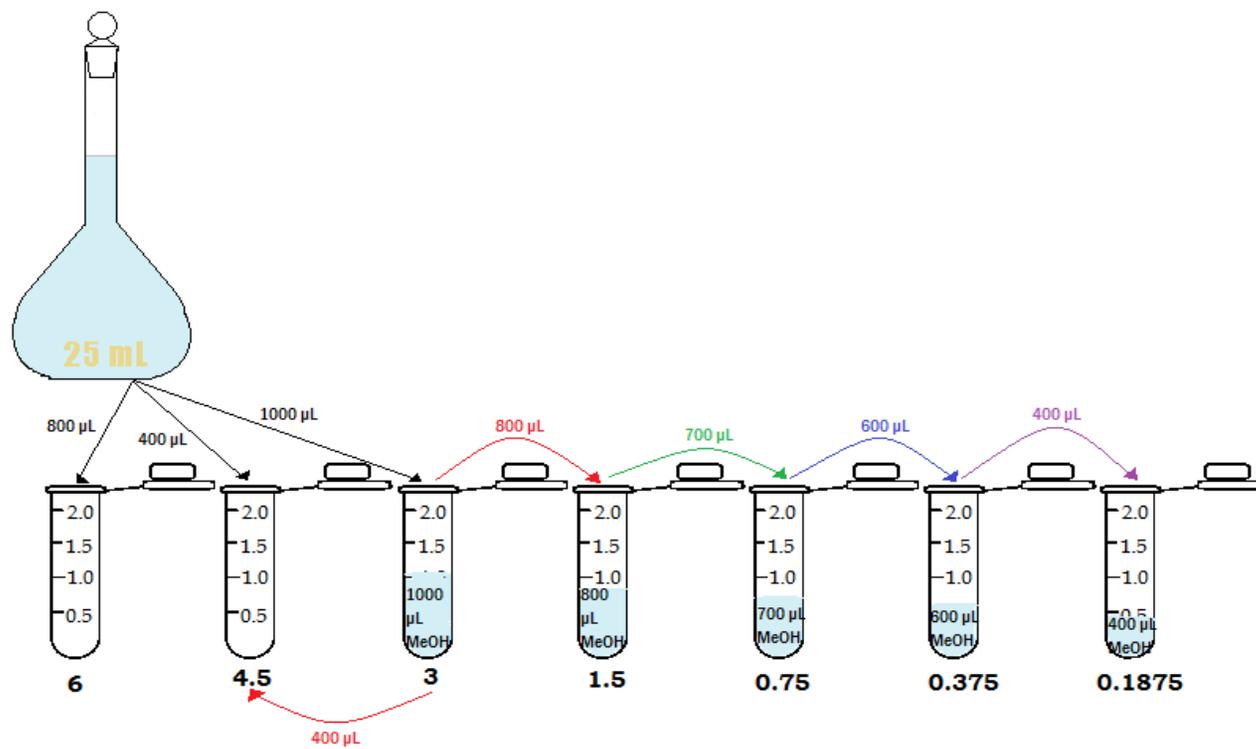
✓ Metanol al 50%

✓ DPPH 0.1 μ M

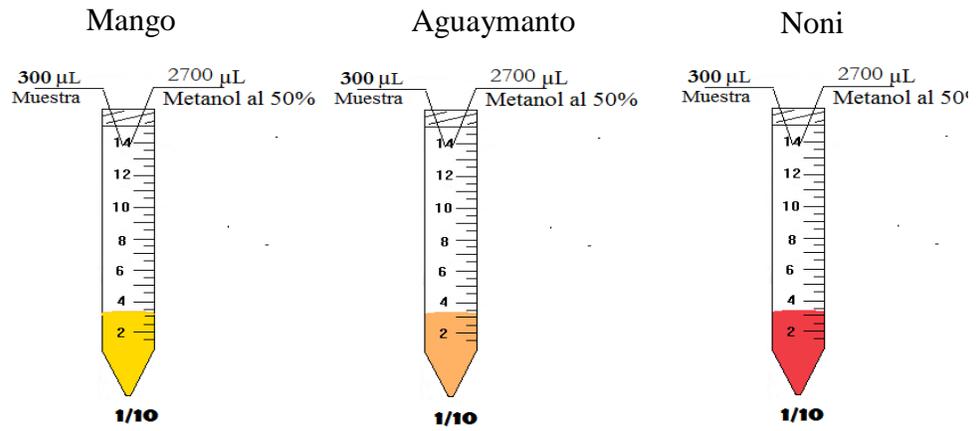
➤ PREPARACIÓN DE LA CURVA PATRÓN



✓ **DILUCIONES DE LA CURVA PATRÓN**



➤ **PREPARACIÓN DE MUESTRAS**

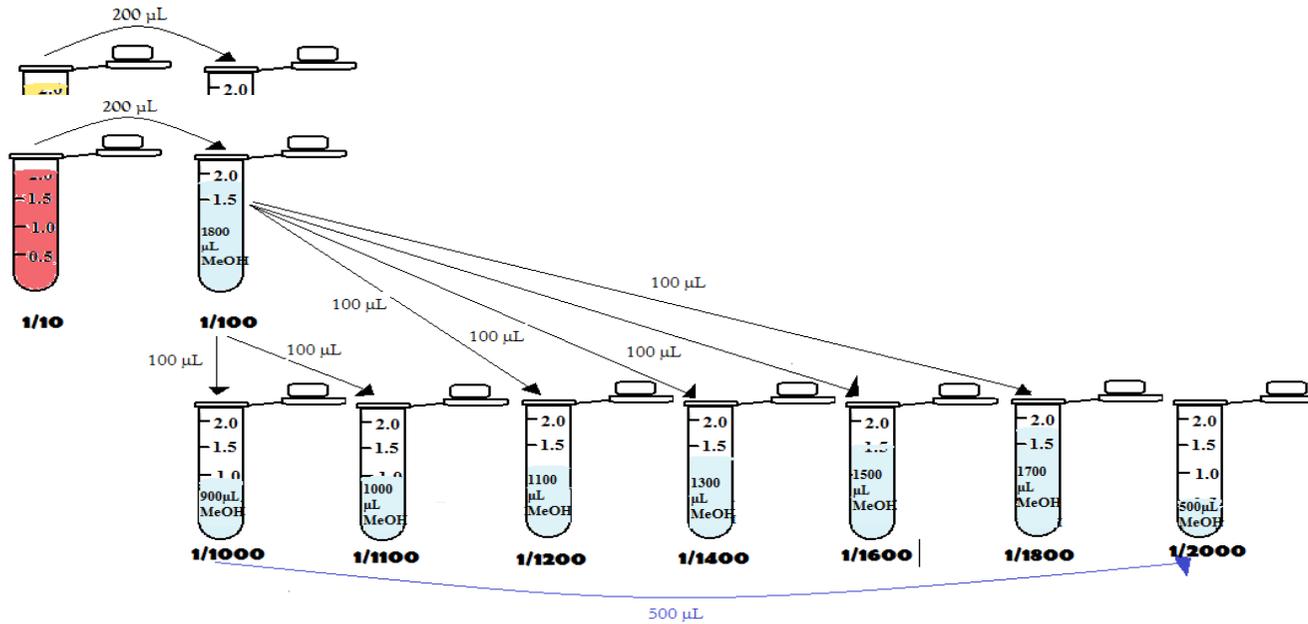


Centrifugar por 8 min a 5000rpm



✓ **DILUCIONES DE LAS MUESTRAS**

- Mango, aguaymanto, noni



➤ **LECTURA DE MICROPLACA**

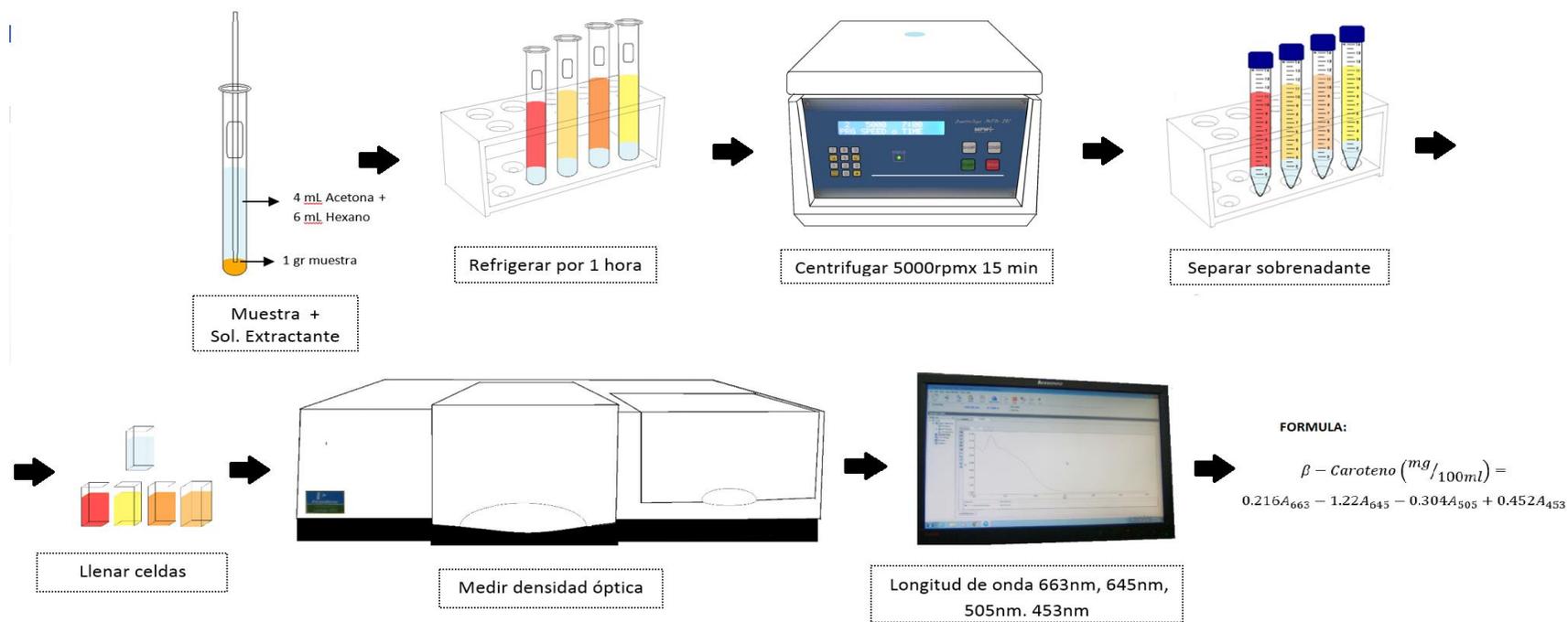
Inyectar 100 µL de DPPH 0.1 µM → TODA LA PLACA

Leer a 505 nm desde t= 0 min a t= 30 min, cada 5 min.

Anexo C

PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE BETA-CAROTENO

β – CAROTENO



Anexo D

Tabla 23

ANOVA del contenido de compuestos fenólicos totales de las pulpas de frutas

	Suma de cuadrados	Media GL cuadrática	F	Sig
Tratamientos	3.760	2 1.880	622.7	0.0001
Residual	0.018	6 0.003		<
Total	3.778	8		.

Tabla 24

Prueba de Comparación de Tukey del contenido de compuestos fenólicos totales de las pulpas de fruta

	Diferencia de medias	Intervalo de confianza (95%).	Sig	Resumen
Mango vs. Aguaymanto	1.302	1.164 - 1.440	Si	****
Mango vs. Noni	-0.1290	-0.2666 - 0.0086	No	ns
Aguaymanto vs. Noni	-1.431	-1.569 - -1.293	Si	****

Anexo E
FICHA DE EVALUACIÓN SENSORIAL PARA BEBIDAS FUNCIONALES

NOMBRE: _____ **FECHA** _____

PRODUCTO: BEBIDA A BASE DE FRUTAS

INSTRUCCIONES: Frente a usted hay DOS muestras de bebida diferentes, usted debe probar primero la muestra 2563 , segundo la muestra.

Marque con una X la muestra con la puntuación que estime conveniente para sabor, color, aceptabilidad general.

CÓDIGO 2563

PUNTUACIÓN	CARACTERÍSTICAS	COLOR	SABOR	ACEPTABILIDAD GENERAL
9	ME GUSTA MUCHÍSIMO			
8	ME GUSTA MUCHO			
7	ME GUSTA MODERADAMENTE			
6	ME GUSTA POCO			
5	NO ME GUSTA NI ME DISGUSTA			
4	ME DISGUSTA POCO			
3	ME DISGUSTA MODERADAMENTE			
2	ME DISGUSTA MUCHO			
1	ME DISGUSTA MUCHÍSIMO			

CÓDIGO 2381

PUNTUACIÓN	CARACTERÍSTICAS	COLOR	SABOR	ACEPTABILIDAD GENERAL
9	ME GUSTA MUCHÍSIMO			
8	ME GUSTA MUCHO			
7	ME GUSTA MODERADAMENTE			
6	ME GUSTA POCO			
5	NO ME GUSTA NI ME DISGUSTA			
4	ME DISGUSTA POCO			
3	ME DISGUSTA MODERADAMENTE			
2	ME DISGUSTA MUCHO			
1	ME DISGUSTA MUCHÍSIMO			

Gracias

Anexo F

Equipos de investigación



Lector Microplacas Multimodal

Synergy HTX-

BIOTEK.





Bebidas Funcionales de mango y noni



Bebidas Funcionales de mango y noni después de 30 días de almacenamiento

