



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL FRUTO
CHAGALAPOLI (*Ardisia compressa* K.) Y EVALUACIÓN
DE SUS PROPIEDADES NUTRACEÚTICAS.**

T E S I S

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN
CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

**PRESENTA:
ELVIA JOAQUÍN CRUZ**



DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
DIVISIÓN DE EXÁMENES PROFESIONALES



Chapingo, Texcoco, Edo. de México, septiembre de 2011.

CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL FRUTO CHAGAPOLI (*Ardisia compressa* K.) Y EVALUACIÓN DE SUS PROPIEDADES NUTRACEÚTICAS

Tesis realizada por Elvia Joaquín Cruz bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

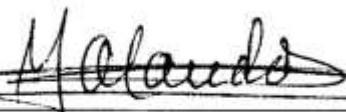
**MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIA Y
TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA**

DIRECTORA:



DRA. MA. TERESA B. COLINAS DE LEÓN

CODIRECTORA:



DRA. YOLANDA SALINAS MORENO

ASESOR:



DR. ARTURO HERNÁNDEZ MONTES

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por financiar los dos años de maestría.

A la Universidad Autónoma Chapingo, por darme la oportunidad de continuar con mi formación profesional.

A la Dra. Yolanda Salinas Moreno por su dirección, disposición y apoyo en todo momento, por confiar en mí y por permitirme tomar mis decisiones.

A la Dra. M. Teresa B. Colinas de León por sus acertadas observaciones durante la realización y revisión del trabajo.

Al Dr. Arturo Hernández Montes por sus aportaciones a este trabajo.

A todo el personal que labora en el área del posgrado por la facilidad otorgada en los diferentes ámbitos durante mi estancia en la Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria.

A la Ing. Ariadna Hernández por los apoyos otorgados durante la fase de campo que se llevó a cabo en San Andrés Tuxtla, Veracruz.

DEDICATORIA

A todos los que han sido parte importante en mi vida: FAMILIA, AMIGOS, PROFESORES y sobre todo para Omar Joaquín Cruz, el Angelito que ya no pudo compartir este importante triunfo conmigo, pero que permanece para siempre en mi corazón.

DATOS BIOGRÁFICOS

Elvia Joaquín Cruz realizó sus estudios de Licenciatura en la Universidad Autónoma Chapingo en el Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Su desarrollo profesional ha sido en investigación en maíz, principalmente, en el Instituto Nacional de Investigación Forestal, Agrícola y Pecuaria (INFAP).

CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL FRUTO CHAGALAPOLI (*Ardisia compressa* K.) Y EVALUACIÓN DE SUS PROPIEDADES NUTRACÉUTICAS

CHARACTERIZATION PHYSICOCHEMISTRY OF FRUIT CHAGALAPOLI (*Ardisia compressa* K.) AND NUTRACEUTICAL PROPERTIES EVALUATION

Joaquín-Cruz E.¹, Y. Salinas-Moreno²

RESÚMEN

México cuenta con una diversidad de frutos exóticos tropicales con alto contenido de compuestos fenólicos, que le confieren una elevada actividad antioxidante. Los objetivos de este estudio fueron: a) cuantificar el contenido de fenoles solubles totales (FST), antocianinas totales (AT) y actividad antioxidante (AA) del fruto chagalapoli (*Ardisia compressa* K.) (ACK), así como su perfil de antocianinas y ácidos fenólicos (AF); b) determinar la estabilidad de fenoles y la AA en la mermelada durante un periodo de almacenamiento de tres meses. Los FST se cuantificaron por Folin-Ciocalteu y las antocianinas por espectrofotometría. El perfil de las antocianinas de fruto, mermelada y ácidos fenólicos se determinó por HPLC. Se probaron dos métodos de elaboración de mermelada (M1 y M2) y se monitorearon FST, AT y AA. El fruto ACK presentó una composición química proximal similar a las frutillas comerciales. Su contenido de FST fue de 826.8 mg EAG/100 g de fruto; de los cuales 96% son antocianinas. La principal antocianina de ACK es peonidina 3-glucósido. De los ácidos fenólicos que se cuantificaron, el ácido p-hidroxibenzoico es el que se encuentra en mayor concentración. El proceso de elaboración de la mermelada, redujo un 41% para la M1 y 48% para la M2 de FST. Durante el almacenamiento, las antocianinas fueron las más afectadas, al presentar pérdidas de hasta 47%. El perfil de antocianinas del fruto no se alteró al ser transformado en mermelada pero sí el porcentaje relativo de área. De acuerdo con los resultados, el fruto ACK presenta una concentración de fenoles solubles y AA mayor que las frutillas comunes, sin embargo, al ser transformado en mermelada su aporte de antioxidantes se ve reducido, aunque el color intenso de la mermelada podría ser aprovechado para impartir color a productos de repostería y helados.

Palabras clave: *Ardisia compressa* K., compuestos fenólicos, ácidos fenólicos, antocianinas.

ABSTRACT

México has a high diversity of exotic fruits from tropical areas which possess an important amount of phenolic that are potent antioxidants. The aims of this work were: a) to quantify the content of total soluble phenolics (TPC), total anthocyanins (TAC) and the antioxidant activity (AA) of the fruit of chagalapoli (*Ardisia compressa* K.) (ACK), as well as the anthocyanin and phenolic acids (PA) profile, and b) to determine the stability of phenolics and the AA in a jam product during three months of storage under room conditions. The TPC were determined by Folin-Ciocalteu method while TAC was done by spectrophotometry. The anthocyanin profile of the fresh fruit, jam and phenolics (PS) acid were obtained by HPLC. Two methods of jam preparation were tested (M1 and M2) and the variables TPC, TAC and AA were monitored in the jam during three months. The fruit of ACK showed a proximal and mineral composition similar to berries. The content of TPC in ACK fruit was 826.8 mg of gallic acid equivalents / 100 g of fresh weight; of these phenolic 96% were anthocyanins. The main anthocyanin in ACK was peonidin 3-glucoside. The p-hydroxybenzoic acid was the most important of the PA that were identified. The process of jam preparation reduced the TPC in 41% when the M1 was used; with the M2 the reduction was of 48%. During storage, the most labile phenolics were the anthocyanins, which showed losses of about 47%. The anthocyanin profile of the fruit was the same of the jams, but it was not the same as the relative percentage of area (RPA). According to the results the fruit ACK it has a concentration of phenolic soluble and AA greater than the common fruits however, during jam preparation a high percentage of its antioxidants are lost. Nevertheless, the intense color remained in the jam could be useful to give color in bakery and dairy products.

Keywords: *Ardisia compressa*, compounds phenolics, phenolics acid, anthocyanins.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIA	iv
DATOS BIOGRÁFICOS.....	v
RESÚMEN.....	vi
CONTENIDO	vii
LISTA DE CUADROS	xi
LISTA DE FIGURAS	xiii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Descripción botánica.....	5
2.1.1 Clasificación botánica	5
2.2 Distribución de <i>Ardisia compressa</i> K. en México	6
2.3 Cosecha	6
2.4 Importancia de los frutos como fuente de compuestos fenólicos	6
2.5 Compuestos fenólicos	8
2.5.1 Estructura química y clasificación	11
2.5.2 Ácidos fenólicos.....	13
2.5.2.1 Estructura química	14
2.5.3 Flavonoides	15
2.5.3.1 Antocianinas.....	16
2.5.3.2 Distribución.....	18
2.5.3.3 Estructura química	19
2.6 Proantocianidinas	20
2.7 Quercetina	21
2.8 Antioxidantes	21
2.9 Radicales libres	23
2.10 Alimentos funcionales y nutraceuticos	24
2.11 Degradación de compuestos fenólicos	24
III. LITERATURA CITADA	26

CAPÍTULO 1. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL FRUTO CHAGALAPOLI (<i>Ardisia compressa</i> K.) Y EFECTO DEL PROCESAMIENTO SOBRE SUS POLIFENOLES	32
RESÚMEN.....	32
1. INTRODUCCIÓN	33
2. MATERIALES Y MÉTODOS	35
2.1 Material vegetal.....	35
2.2 Caracterización físicoquímica del fruto	35
2.2.1 Color.....	35
2.2.2 Tamaño, peso y proporción de pulpa-hueso	37
2.2.3 Sólidos Solubles Totales	37
2.2.4 pH.....	37
2.2.5 Acidez titulable	37
2.3 Análisis proximal	38
2.4 Compuestos fenólicos	38
2.4.1 Extracción	38
2.4.2 Fenoles solubles totales.....	39
2.4.3 Contenido de antocianinas totales (CTA)	39
2.4.4 Análisis de antocianinas en HPLC	39
2.5 Análisis de ácidos fenólicos	41
2.5.1 Cuantificación	42
2.5.2 Identificación de los compuestos fenólicos por HPLC	42
2.6 Actividad antioxidante	43
2.7 Cuantificación de proantocianidinas	45
2.8 Elaboración de la mermelada	45
2.8.1 Efecto del proceso de elaboración de la mermelada de ACK sobre sus compuestos fenólicos	46
2.9 Análisis estadístico de datos.....	46
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
3.1 Descripción del fruto.....	47
3.2 Composición química del fruto ACK	48

3.3 Contenido de fenoles solubles totales y antocianinas totales en frutos de ACK	50
3.4 Análisis de las antocianinas por HPLC	52
3.5 Ácidos fenólicos.....	55
3.6 Actividad antioxidante de los extractos metanólicos	56
3.7 Proantocianidinas	58
3.8 Efecto del proceso de elaboración de la mermelada de ACK sobre sus compuestos fenólicos	59
4. CONCLUSIONES	60
5. LITERATURA CITADA.....	61
CAPÍTULO 2. ESTABILIDAD DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS EN MERMELADA DEL FRUTO CHAGALAPOLI (<i>Ardisia compressa</i> K.)	65
RESÚMEN.....	65
1. INTRODUCCIÓN	66
2. MATERIALES Y MÉTODOS	68
2.1 Material vegetal.....	68
2.2 Elaboración de la mermelada	68
2.3 Variables físicas estudiadas en la mermelada	69
2.3.1 Color.....	69
2.3.2 Sólidos Solubles Totales (SST).....	70
2.3.3 pH.....	70
2.3.4 Actividad de agua (aw)	70
2.3.5. Humedad	70
2.4 Variables químicas evaluadas en la mermelada.....	70
2.4.1 Acidez titulable (AT)	70
2.4.2 Compuestos fenólicos	71
2.4.2.2 Fenoles solubles totales.....	71
2.4.3 Antocianinas totales (CTA)	72
2.4.4 Análisis de antocianinas en HPLC	72
2.5 Actividad antioxidante	73
2.6 Análisis estadístico de datos.....	74
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	75

3.1 Variables físicas	75
3.1.1 Color.....	75
3.1.2 Variables de pH, SST y aw	77
3.2 Variables químicas	78
3.2.1 Acidez titulable	78
3.3 Fenoles solubles totales y antocianinas totales	79
3.4 Identificación de antocianinas en mermelada de ACK por HPLC	81
3.5 Actividad antioxidante	83
4. CONCLUSIONES	86
5. LITERATURA CITADA.....	87

LISTA DE CUADROS

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Cuadro 1	Contenido de fenoles totales en frutillas.....	8
Cuadro 2.	Clasificación general de los compuestos fenólicos de acuerdo a su estructura química.....	12
Cuadro 3.	Contenido de antocianinas en frutillas.....	17
Cuadro 4.	Capacidad antioxidante en frutillas (Método de ORAC, ABTS y DPPH).....	22

CAPÍTULO 1. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL FRUTO CHAGALAPOLI (*Ardisia compressa* K.) Y EFECTO DEL PROCESAMIENTO SOBRE SUS POLIFENOLES

Cuadro 1.	Características físicas de los frutos de <i>Ardisia compressa</i> Kush (ACK).....	47
Cuadro 2.	pH, sólidos solubles totales, y acidez titulable en frutos de ACK.....	48
Cuadro 3.	Contenido de minerales y composición proximal del fruto de <i>Ardisia compressa</i> K.....	49

Cuadro 4.	Picos identificados, tiempo de retención y porcentajes relativos de área del cromatograma de jugo de <i>Ardisia compressa</i> K.....	52
Cuadro 5.	Picos identificados, tiempo de retención y porcentaje relativo de área de los picos del cromatograma de jugo de <i>Ardisia compressa</i> K. después de ser hidrolizados con ácido.....	53
Cuadro 6	Identificación y cuantificación de ácidos fenólicos en el fruto de ACK.....	55
Cuadro 7.	Actividad antioxidante de los extractos metanólicos de las frutillas por los método de ABTS y DPPH.....	57

CAPÍTULO 2. ESTABILIDAD DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS EN MERMELADA DEL FRUTO CHAGALAPOLI (*Ardisia compressa* K.)

Cuadro 1.	Parámetros de color en mermelada de ACK almacenada a temperatura ambiente	74
Cuadro 2.	Medias de las variables físicas de estudio de las mermeladas de ACK al tiempo 0 y a los 3 meses de almacenamiento.....	77
Cuadro 3.	Identidad de antocianinas, tiempo de retención y porcentaje relativo de área de mermelada de frutos de <i>Ardisia compressa</i> K. elaborada bajo el M1.....	82
Cuadro 4.	Actividad antioxidante de extractos metanólicos de mermelada de ACK, por los métodos de ABTS y DPPH.....	84

LISTA DE FIGURAS

REVISION BIBLIOGRÁFICA

Figura 1. Producción de fenilpropanoides, estibenos, lignanos, ligninas, suberinas, cutinas, flavonoides y taninos a partir de la fenilalanina (PAL).....	9
Figura 2. Clasificación de componentes fenólicos en frutilla.....	11
Figura 3. Ácidos fenólicos encontrados en alimentos y nutraceuticos.....	15
Figura 4. Las antocianidinas más comunes distribuidas en función del aumento del color rojo y disminución del color azul.....	19
Figura 5. Estructura básica de las antocianinas (catión flavilio).....	20

CAPÍTULO 1. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL FRUTO CHAGALAPOLI (*Ardisia compressa* K.) Y EFECTO DEL PROCESAMIENTO SOBRE SUS POLIFENOLES

Figura 1. a) Flores b) Frutos inmaduros c) Frutos maduros d) semillas de <i>Ardisia compressa</i> Kush.....	46
Figura 2. Contenido de fenoles solubles totales (FST), y contenido de antocianinas totales (AT) en frutos frescos de chagalapoli, fresa, zarzamora y arándano.....	50

Figura 3.	Cromatogramas del jugo del fruto <i>Ardisia compressa</i> K. a). Jugo no hidrolizado; b) Jugo hidrolizado con ácido.....	51
Figura 4	Cromatogramas de antocianinas del jugo de ACK sin hidrólisis (línea punteada) y con hidrólisis alcalina (línea continua).....	54
Figura 5.	Contenido de fenoles solubles totales y antocianinas totales en fruto de ACK y mermelda.....	58

CAPÍTULO 2. ESTABILIDAD DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS EN MERMELADA DEL FRUTO CHAGALAPOLI (*Ardisia compressa* K.)

Figura 1.	Cambio del ΔE de la mermelada durante el almacenamiento de las mermeladas.....	75
Figura 2.	Contenido de fenoles solubles totales (FST), y contenido total de antocianinas (TA) en mermelada a de chagalapoli.....	79
Figura 3.	Cromatograma de antocianinas del jugo y mermelada de ACK al tiempo 0 y a los 3 meses; 1)Desconocido, 2)Desconocido, 3)Delfinidina 3-Glucósido, 4)Desconocido, 5)Desconocido, 6)Cianidina 3-rutinósido, 7) Desconocido 8 y 9)Peonidina 3-Glucósido y malvidina 3-Glucósido, 10)Desconocido.....	81

1. INTRODUCCIÓN

México cuenta con una diversidad de frutos exóticos tropicales con alto contenido de antioxidantes, algunos de ellos son perecederos tal es el caso de *Ardisia compressa* K. (ACK) y considerando el problema de la estacionalidad de la producción que dura sólo algunos meses, se tiene la necesidad de estudiar y buscar técnicas de conservación adecuadas, según las condiciones para un mejor aprovechamiento del fruto, otra opción de comercialización de este fruto sería mediante su industrialización, para facilitar su manejo y mantener sus atributos nutricionales el mayor tiempo posible, aumentando así el periodo de oferta y darle valor agregado.

Este fruto se puede utilizar para generar diferentes productos como son: agua fresca, licor, conserva, etc. Actualmente, tales productos son elaborados de manera artesanal, en las zonas de producción. Estudios previos por Hernández-García (2007), indican que el fruto de ACK presenta un perfil de antocianinas diferente al de las frutillas más comerciales (arándano, zarzamora, frambuesa y fresa), lo que ofrece la posibilidad de incorporarlo a la dieta como una fuente diferente y rica en compuestos fenólicos, particularmente en antocianinas; las que han recibido especial atención no solo por ser pigmentos naturales que contribuyen al color de los productos que las contienen, sino por sus diferentes actividades biológicas, dentro de las cuales una de las más estudiadas es su actividad antioxidante, debida a la presencia de sustituyentes OH , en el anillo “B” de su molécula (Moreno-Álvarez *et al.*, 2002).

Los estudios epidemiológicos han demostrado que una dieta abundante en antioxidantes es un factor definitivo en la prevención del desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas tales como: cáncer, trombosis, artritis, además de que estas sustancias activan células del sistema inmune e inhiben la oxidación de lípidos.

Diferentes estudios mencionan que la elaboración de alimentos procesados ha sido reconocida como uno de los principales factores en la destrucción o cambios de fitoquímicos naturales, que pueden afectar la capacidad antioxidante en los alimentos (Hager *et al.*, 2008). Por lo que es importante el monitoreo de dichos compuestos durante la elaboración y almacenamiento de los productos. Es así que surge la inquietud de estudiar los principales compuestos fenólicos en el fruto de ACK y evaluar el efecto sobre estos compuestos como resultado del proceso de elaboración de mermelada a partir del fruto.

Objetivos

General: realizar la caracterización fisicoquímica del fruto “chagalapoli” (*Ardisia compressa*, K.) y determinar el efecto de elaboración de la conserva sobre sus polifenoles, y la estabilidad de dichos compuestos durante el almacenamiento; así como su valor nutracéutico.

Particulares:

- Determinar la composición proximal y mineral del fruto de *Ardisia compressa* K. en madurez comestible y su composición de polifenoles
- Evaluar el efecto de la elaboración de una conserva a partir de esta fruta sobre sus polifenoles.
- Determinar la estabilidad de los polifenoles en la conserva, durante su almacenamiento.
- Determinar el valor nutracéutico del fruto de ACK y su conserva en términos de su actividad antioxidante.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Aproximadamente 500 especies de *Ardisia* se encuentran en todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo, las cuales han sido utilizadas como plantas ornamentales, alimenticias y medicinales. Debido a la confusión taxonómica, la correcta identificación y adquisición de material vegetal sigue siendo difícil para algunas especies. Las especies de *Ardisia* son una fuente rica de compuestos biológicamente potentes, como bergenina y ardisina, la utilización de sus componentes fitoquímicos no ha sido totalmente explorada, resultando en una subexplotación. Aunque las especies de *Ardisia* se han utilizado como fuentes de alimentos y medicinas, el registro detallado sobre el uso de estos es escaso y limitado (Kobayashi y González, 2005).

Se han realizado diferentes estudios sobre la composición de la parte vegetativa de *Ardisia compressa* K. Algunos autores mencionan que extractos acuosos de las hojas son ricos en compuestos fenólicos, por lo que presentan alta actividad antioxidante y ayudan a la prevención de diferentes enfermedades degenerativas, entre ellas células cancerígenas (Chandra y González, 2004; González *et al.*, 2004; Ramírez-Mares *et al.*, 2004; González *et al.*, 2006;).

2.1 Descripción botánica

Ardisia, es un género grande que pertenece a la familia de las *Myrsinaceae*, en el que se han identificado varias especies, con 14 subgéneros; los cuales han sido clasificados con base en el tipo de hábitat y algunas características florales tales como longitud del filamento y el estilo, número y disposición de los óvulos, la posición de la inflorescencia, entre otras (Po-Yang, 1989).

2.1.1 Clasificación botánica

Reino: Plantae

Filo: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Ericales

Familia: *Myrsinaceae*

Nombre científico. *Ardisia compressa* K.

Nombre vulgar: chagalapoli o capulincillo de mayo

Varias de las especies de *Ardisia* muestran una gama muy amplia de actividades biológicas, lo que indica que algunas de estas plantas pueden ser explotadas para el desarrollo de fitofármacos (Po-Yang, 1989).

Hábito: Árbol o arbusto.

Hábitat: climas tropicales y subtropicales

Es un arbusto que alcanza una altura de hasta 3 metros, posee hojas lanceoladas a oblongas o elípticas de 6 a 15 cm., agudas o acuminadas, flores blancas de 6 mm aproximadamente. El fruto es de color rojo a púrpura con una pequeña semilla redonda, de sabor ácido. Crece en alturas de 500 msnm (William, 1966).

2.2 Distribución de *Ardisia compressa* K. en México

Ardisia compressa Kush, es un árbol que crece en las zonas cálidas de México, en los estados de Sinaloa, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Oaxaca y Veracruz (William, 1966).

2.3 Cosecha

La época de cosecha del fruto de ACK son en los meses de marzo, abril y mayo, debe cosecharse cuando cambia de color, de un tinte rosa pálido a uno púrpura, así mismo debe presentar mayor tamaño. La planta dura un año en vivero y una vez trasplantada, la producción comienza normalmente a los tres años de iniciada la plantación. El corte se realiza manualmente, desprendiendo la fruta del pedúnculo y colocándolo en un canasto. El rendimiento que se obtiene de un árbol durante el periodo de cosecha son de aproximadamente 10 kg. Las plantaciones son principalmente de traspatio, con superficies máximas de un cuarto de ha. y generalmente en asociación con otros cultivos como cedro, mango y nanche (Hernández-García, 2007).

El chagalapoli se destina predominantemente a la elaboración de licor, así como a la preparación de aguas frescas y conservas. Existe la posibilidad de que, al igual que otros frutos, el chagalapoli se utilice para la obtención de jarabes, jaleas y posteriormente para la obtención de colorantes naturales útiles en la elaboración de alimentos en los ramos de la repostería, dulces y refrescos.

2.4 Importancia de los frutos como fuente de compuestos fenólicos

Las frutas y verduras no sólo son fuentes de alimentación primaria con nutrientes esenciales para mantener la vida, sino que también contienen una gran variedad de fitoquímicos tales como ácidos fenólicos y flavonoides, que proporcionan beneficios

importantes para la salud. Los radicales libres inducidos por el estrés oxidativo se han asociado con diferentes procesos celulares tóxicos incluidos los daños por la oxidación de proteínas y del ADN, la oxidación lipídica de la membrana, la inactivación de enzimas, y el gen de mutación que puede conducir a la carcinogénesis. La ingesta de cantidades suficientes de antioxidantes es recomendable para evitar que los radicales libres inducidos por el estrés oxidativo dañen estructuras celulares. Se ha comprobado que la capacidad antioxidante de frutas y verduras provienen de los fenoles que poseen.

Es importante caracterizar los diferentes tipos de frutos para cuantificar el contenido de compuestos antioxidantes específicos. Sin embargo, debido a la dificultad asociada a la medición de los distintos componentes, diversas metodologías se han desarrollado para la obtención cuantitativa de los compuestos (Tosun *et al.*, 2009).

El Cuadro 1, presenta información sobre el contenido de fenoles totales en diferentes frutillas; el contenido de estos compuestos está determinado por diversos factores, tales como especie, variedad, cultivo, región, condiciones climáticas, estado de madurez, tiempo de cosecha, tiempo y condiciones de almacenamiento, entre otros (Szajdek y Borowska, 2008).

Los compuestos fenólicos disminuyen con el grado de madurez en las frutas, pero aumentan como respuesta al estrés producido por magulladuras y por infecciones fúngicas. La importancia de estas variaciones dependen mucho del producto vegetal y de las condiciones de almacenamiento (Fennema, 2000).

Cuadro 1. Contenido de fenoles totales en frutillas comerciales.

Especies	mg/100 g de tejido fresco
Arándano negro (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	525
Zarzamora (<i>Rubus fruticosus</i>)	417–555
Grosella (<i>Ribes nigrum</i>)	498–1342
Arándano (<i>Vaccinium corymbosum</i>)	181.1–473
Arándano rojo (<i>Vaccinium macrocarpon</i>)	120.0–176.5
Frambuesa (<i>Rubus idaeus</i>)	113.73–177.6
Fresa (<i>Fragaria x ananassa</i>)	317.2–443.4

Fuente: Szajdek y Borowska, 2008.

2.5 Compuestos fenólicos

Están presentes en el reino vegetal, siendo parte importante de la dieta tanto humana como animal. Constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, con diferentes estructuras y actividad, englobando más de 8000 compuestos distintos. La distribución de los compuestos fenólicos en los tejidos y células vegetales varía considerablemente de acuerdo al tipo de compuesto químico que se trate, situándose en el interior de las células o en la pared celular (Martínez-Valverde *et al.*, 2000). Están generalmente en forma de glucósidos en los extractos de las frutas, hierbas, vegetales, cereales y otros materiales de plantas ricos en polifenoles (Muñoz-Jáuregui y Ramos-Escudero, 2007).

Los compuestos fenólicos son considerados metabolitos secundarios sintetizados por las plantas durante su desarrollo normal (Harborne, 1982; Pridham, 1960; Naczki y Shahidi, 2004), y en respuesta a condiciones de estrés como infección,

heridas, y radiación UV, entre otros (Beckman, 2000, Nicholson y Hammerschmidt, 1992; Naczk y Shahidi, 2004). Estos compuestos son un grupo muy diverso de fitoquímicos derivados de fenilalanina y tirosina (Figura 1). Los fenólicos en plantas incluyen fenoles simples, ácidos fenólicos (incluye derivados de ácido benzoico y cinámico), cumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos hidrolizables y condensados, lignanos y ligninas. En las plantas los fenoles pueden actuar como fitoalexinas, atrayentes de polinizadores, contribuyen a la pigmentación de plantas, antioxidantes y agentes protectores contra la luz UV, entre otros (Shahidi y Naczk, 2004).

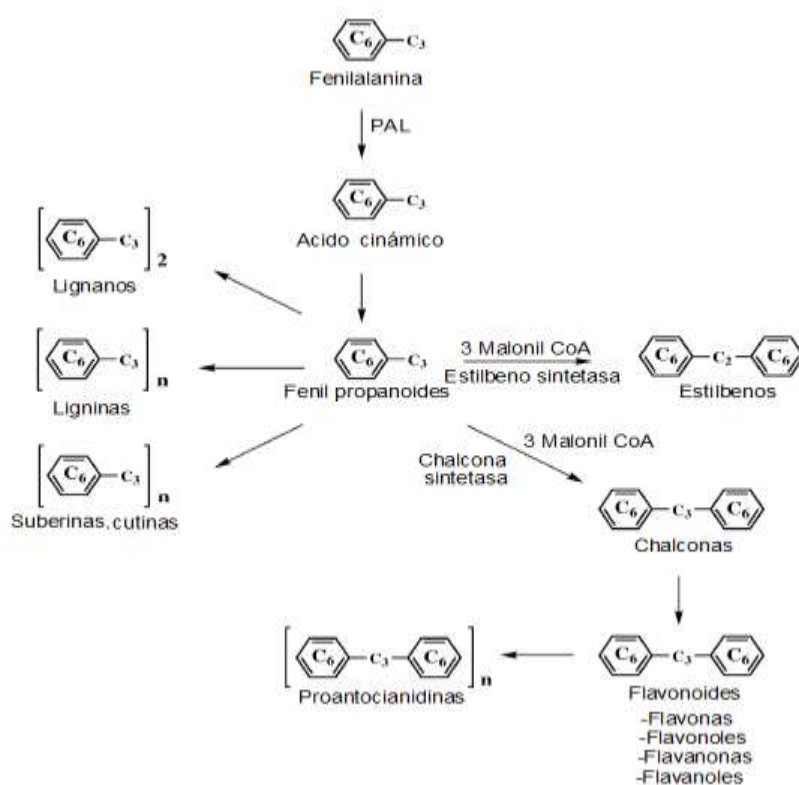


Figura 1. Producción de fenilpropanoides, estilbenos, lignanos, ligninas, suberinas, cutinas, flavonoides y taninos a partir de la fenilalanina (Naczk y Shahidi, 2004).

Los fenoles insolubles son componentes de la pared celular, mientras que los fenoles solubles se encuentran en las vacuolas (Naczki y Shahidi, 2004). Los compuestos fenólicos, conocidos como flavonoides y ácidos fenólicos, son los mayores constituyentes en frutillas y presentan un rol importante en aspectos nutritivos, organolépticos y comerciales (Wu *et al.*, 2002; Butkhup y Samappito, 2008).

Los compuestos fenólicos están relacionados con la calidad sensorial de los alimentos de origen vegetal, tanto frescos como procesados. Su contribución a la pigmentación de los alimentos vegetales está claramente reconocida, a través de las antocianidinas, responsables de los colores rojo, azul, violeta, naranja y púrpura de la mayoría de las plantas y de sus productos (Martínez-Valverde *et al.*, 2000). Los fenoles contribuyen al sabor amargo, astringencia, sabor y estabilidad oxidativa de productos alimenticios (Naczki y Shahidi, 2004).

En la actualidad este grupo de compuestos fitoquímicos presenta un gran interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana. La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos tiene interés desde un punto de vista tecnológico y nutricional. Así, los compuestos fenólicos intervienen como antioxidantes naturales de los alimentos, por lo que la obtención y preparación de alimentos con un alto contenido en estos compuestos supone una reducción en la utilización de aditivos antioxidantes, a la vez que se obtienen alimentos más saludables, que incluso pueden llegar a englobarse dentro de los alimentos funcionales. Desde un punto de vista nutricional, esta actividad antioxidante se asocia con su papel protector en las enfermedades cardiovasculares y en el cáncer así como en procesos de envejecimiento (Martínez-Valverde *et al.*, 2000).

De acuerdo a la composición de las frutillas, se puede clasificar los componentes fenólicos como se muestra en la Figura 2.

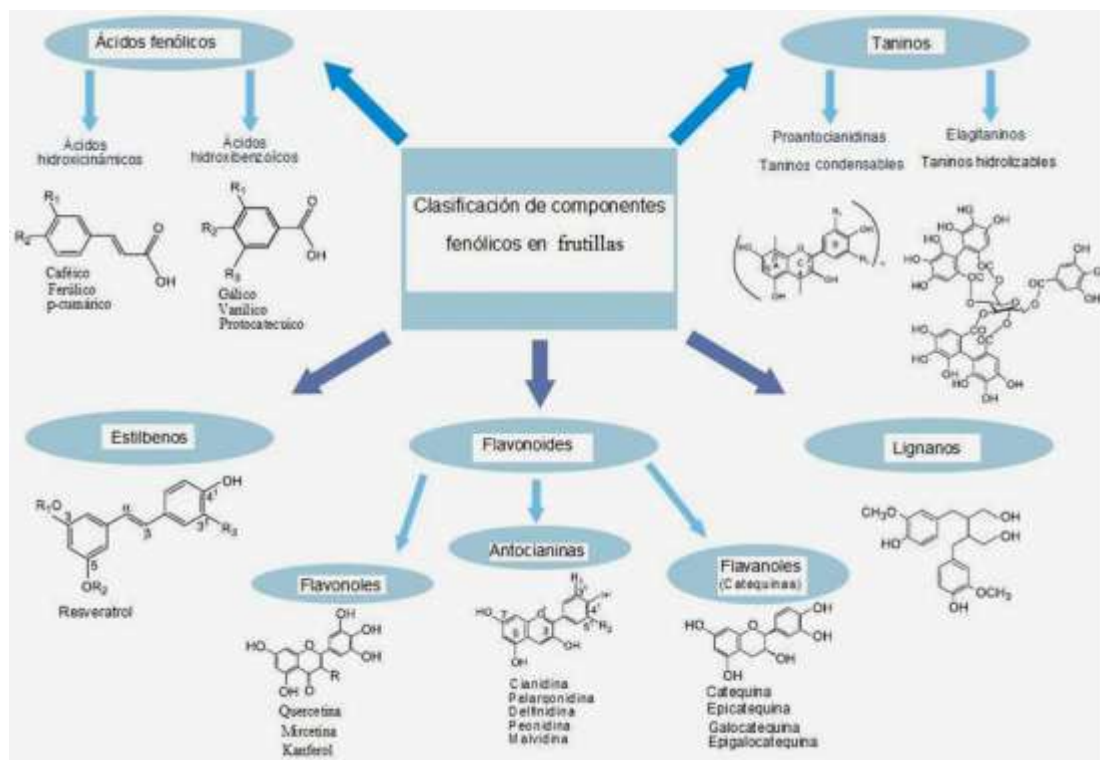


Figura 2. Clasificación de componentes fenólicos en frutillas comerciales. Fuente: Paredes-López *et al.*, 2010.

2.5.1 Estructura química y clasificación

Los compuestos fenólicos son sustancias químicas que poseen un anillo aromático, un anillo benceno, con uno o más grupos hidroxilos incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc.). La naturaleza de los polifenoles varía desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos. Se presentan en las plantas en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilos, aunque en algunos casos se pueden producir uniones directas entre una molécula de azúcar y un carbono aromático. Por ello

la forma más común de encontrarlos en la naturaleza es en forma de glicósidos, siendo solubles en agua y solventes orgánicos. Los azúcares asociados a los polifenoles pueden ser monosacáridos, disacáridos o incluso oligosacáridos. Los azúcares a los que se encuentran unidos con mayor frecuencia son: glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa, y ácidos glucurónico y galacturónico. También pueden encontrarse unidos a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos y a otros compuestos fenólicos (Martínez-Valverde *et al.*, 2000).

Los compuestos fenólicos se pueden agrupar en diferentes clases dependiendo de su estructura química básica, aquellos con un mayor interés nutricional son: ácidos fenólicos y ácidos fenil acéticos; ácidos cinámicos, cumarinas, isocumarinas y cromonoles; Lignanós y neolignanós; Flavonoides y taninos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Clasificación general de los compuestos fenólicos de acuerdo a su estructura química

Clase	Ejemplos
Ácidos fenólicos	
- Ácidos benzoicos - Hidroxicinámicos	Gálico, protocatecico, ρ- hidroxibenzoico Cumárico, caféico, ferúlico, sinápico
Taninos hirdrolizables	Pentagaloil glucosa
Estilbenos	Resveratrol
Lignanós	Secoisolariciresinol, matairesinol, lariciresinol pinoresinol
Flavonoides	

- Flavonoles Caempferol, quercitina, mircetina
- Flavonas Apigenina, luteolina
- Flavanonas Naringenina, hesperetina
- Flavanoles Catequinas, galocatequinas
- Antocianidinas Cianidina, Palargonidina y malvidina
- Proantocianidinas Trímeros de procianidina, prodelfinidinas
- Flobales, proantocianidinas
- Taninos
condensables
- Isoflavonas Daidzeína, genisteína, gliciteína

Fuente: Farah y Marino, 2006

2.5.2 Ácidos fenólicos

De acuerdo a su síntesis pueden ser clasificados en dos grupos, los derivados del ácido benzoico y los derivados del ácido cinámico (Martínez-Velarde, 2000). Los ácidos fenólicos se originan en la ruta del ácido shiquímico, que comienza con la condensación del fosfoenolpiruvato y la eritrosa 4-fosfato (Fennema, 2000).

Estos compuestos pueden encontrarse esterificados con azúcares u otros fenoles, o formando parte de los taninos. La fenilalanina y la tirosina también se sintetizan en la ruta del ácido shiquímico y pueden actuar como precursores importantes en la formación de ácidos fenólicos (Fennema, 2000).

Los ácidos fenólicos se encuentran en forma libre o ligada (Ross *et al.*, 2009). Los ácidos cinámicos (cafeíco, ferúlico, *p*-cumárico y sinápico) se encuentran raramente

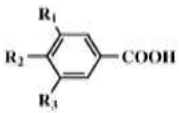
libres, ya que por lo general se encuentran presentes en forma de derivados. Así por ejemplo, el ácido cafeíco se encuentra esterificado con el ácido quínico como ácido clorogénico, isoclorogénico, neoclorogénico y criptoclorogénico. Las cumarinas e isocumarinas se encuentran generalmente en forma de glicósido (Martínez-Velarde, 2000). El ácido gálico se encuentra en plantas en forma de ésteres de catequinas, éster de ácido quínico o taninos hidrolizables (Shahidi y Ho, 2005; Martínez-Velarde, 2000).

Estas formas diferentes de ácidos fenólicos pueden variar de acuerdo a la susceptibilidad a diferentes condiciones de extracción y a su degradación (Ross *et al.*, 2009). Son solubles en agua y en solventes orgánicos (Dicko *et al.*, 2006).

En frutillas, se ha reportado que encontraron derivados de ácidos benzoico y cinámico. Están principalmente unidos en forma de esteres o glicósidos. De los derivados de ácido benzoico se han encontrado: ácido p-hidroxibenzoíco, ácido salicílico, ácido gálico y ácido elágico. En el grupo de derivados de ácido cinámico, la presencia del ácido p-cumárico, ácido cafeíco y ferúlico (Szajdek y Borowska, 2008).

2.5.2.1 Estructura química

El ácido fenólico puede ser definido como un compuesto que posee un anillo aromático que tiene una o más sustituciones hidroxilos, incluyendo derivados funcionales (éster, glucósidos, etc.) (Shahidi y Ho, 2005; Pokorny *et al.*, 2001) (Figura 3).

				
Ácido		R ₁	R ₂	R ₃
p-hidroxibenzoico	4-Hidroxibenzoico	H	OH	H
Protocatecuico	3,4 Dihidroxibenzoico	OH	OH	H
Vanílico	4-Hidroxi-3-metoxibenzoico	OCH ₃	OH	H
Siringico	3,5-Dimetoxibenzoico	OCH ₃	OH	OCH ₃
Gálico	3,4, 5-Trihidroxibenzoico	OH	OH	OH

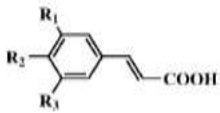
				
Acid		R ₁	R ₂	R ₃
p-cumárico	4-Hidroxicinámico	H	OH	H
Caféico	3,4- Dihidroxicinámico	OH	OH	H
Ferúlico	4-hidroxi-3, 5-Dimetoxicinámico	OCH ₃	OH	H
Sinápico	4-Hidroxi-3-metoxicinámico	OCH ₃	OH	OCH ₃

Figura 3. Ácidos fenólicos encontrados en alimentos. Fuente: Naczki y Shahidi, 2004.

Los ácidos caféico y ferúlico son los más comunes en frutas, y se encuentran raramente en forma libre; en general, están en forma esterificada con otras moléculas como carbohidratos y ácidos orgánicos (Paredes-López *et al.*, 2010).

2.5.3 Flavonoides

Los flavonoides comprenden un grupo de compuestos polifenólicos ampliamente distribuidos en las frutas y en los vegetales, así como en el té negro, café, cocoa, cerveza y el vino tinto. Pueden aparecer desde simples moléculas fenólicas hasta compuestos muy polimerizados con pesos moleculares superiores a los 30 000 Da (Pérez-Trueba, 2003).

Los flavonoides constituyen el grupo más importante dentro de la clasificación de compuestos fenólicos, dividiéndose en varias subclases con más de 5000 compuestos,

siendo los polifenoles más distribuidos en las plantas. Son sustancias polifenólicas de bajo peso molecular que comparten el esqueleto común de difenilpiranos: dos anillos benceno unidos a través de un anillo pirona o pirán heterocíclico. Esta estructura básica presenta o permite una multitud de sustituciones y variaciones en el anillo pirona dando lugar a flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanoles, isoflavonoides, catequinas, chalconas, dihidrochalconas, antocianidinas, leucoantocianidinas o flavandiol y proantocianidinas o taninos condensados. Dentro de todos estos grupos las flavonas (apigenina, luteolina y diosmetina), los flavonoles (quercitina, mirecitina y kampferol) y sus glicósidos son los compuestos más abundantes en vegetales (Martínez-Valverde *et al.*, 2000).

2.5.3.1 Antocianinas

Las antocianinas son el grupo más importante de compuestos hidrosolubles, y responsables de los colores rojos, púrpuras y azules que se aprecian en flores, frutos y otras partes de las plantas, que se encuentran en la vacuola. Se ha reportado que dichos compuestos poseen importantes propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, además de brillantes colores y alta solubilidad en agua, lo que hace de estos compuestos una importante alternativa para sustituir parte de los colorantes sintéticos (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009; Oh *et al.*, 2008; Pazmiño-Durán *et al.*, 2001).

La actividad antioxidante de las antocianinas juegan un papel importante en la prevención de enfermedades cardiovasculares y neuronales (Konczak y Zhang, 2004; Castañeda-Ovando *et al.*, 2009). Algunos estudios puntualizan el efecto de las antocianinas en tratamientos de cáncer (Lule y Xia, 2005; Nichenametla *et al.*, 2006; Castañeda-Ovando *et al.*, 2009). También ayudan a la protección en la División del

ADN, a la actividad anti-inflamatoria, a la actividad antidiabética y la prevención de enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas (Oh *et al.*, 2008).

Las antocianinas se acumulan en la planta en su forma glicosilada, esto es, unidas a algún azúcar, si el azúcar que contienen las antocianinas se hidroliza, se origina una antocianidina. El color de las antocianinas es fácilmente afectado por diversos factores, un particular problema es la influencia del pH. No todas las antocianinas son igualmente susceptibles a degradarse ante condiciones extremas de pH, de acuerdo al valor de este factor se presenta una variación en el color que adquieren cuando están en solución (Fennema, 2000).

Las antocianinas difieren con respecto al número de grupos hidroxilos en la molécula, el grado de metoxilación de estos grupos, el tipo, número y lugar de enlace de la molécula del azúcar, así como el tipo y número de ácido aromático o alifático unido a un azúcar en una molécula de antocianina (Szajdek y Borowska, 2008).

En el Cuadro 3, se muestra el contenido total de antocianinas de algunas frutillas de interés comercial en el mercado.

Cuadro 3. Contenido total de antocianinas en frutillas comerciales

Frutos	Antocianinas (mg/100 g de TF)
Arándano negro (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	299.6
Zarzamora (<i>Rubus fruticosus</i>)	134.6–152.2
Grosella negra (<i>Ribes nigrum</i>)	128–411
Arándano (<i>Vaccinium corymbosum</i>)	62.6–235.4
Aronia (<i>Aronia melanocarpa</i>)	428
Arándano rojo (<i>Vaccinium macrocarpon</i>)	19.8–65.6

Frambuesa (<i>Rubus idaeus</i>)	35.1–49.1
Grosella roja (<i>Ribes rubrum</i>)	7.5–7.8
Fresa (<i>Fragaria x ananassa</i>)	39.08

Fuente. Szajdek y Borowska, 2008

En frutillas, las antocianinas encontradas están en forma de mono, di y triglicósidos, donde los residuos de glucósidos son usualmente sustituidos en C3 o menos frecuente, en C5 o C7. Los azúcares prevalentes son glucosa, galactosa, ramnosa, arabinosa, rutinosa, sambubiosa y soforosa (Szajdek y Borowska, 2008).

2.5.3.2 Distribución

En la naturaleza se conocen 17 agliconas, pero sólo seis de ellas se encuentran comúnmente en las plantas superiores, las cuales son: cianidina (Cy), peonidina (Pn), pelargonidina (Pg), malvidina (Mv), delfinidina (Dp) y petunidina (Pt) (Figura 4); de las cuales cianidina, delfinidina y pelargonidina son las más ampliamente distribuidas (Eder 2000, Kong *et al.* 2003; Horbowicz *et al.*, 2008), representan el 80 % del pigmento de las hojas, 69 % de las frutas y 50 % de las flores (Kong *et al.*, 2003). La distribución de las 6 antocianinas más comunes en partes comestibles de plantas es: cianidina 50 %, pelargonidina, 12 %, peonidina 12%, delfinidina 12%, petunidina 7 % y malvidina 7% (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009; Kong *et al.*, 2003).

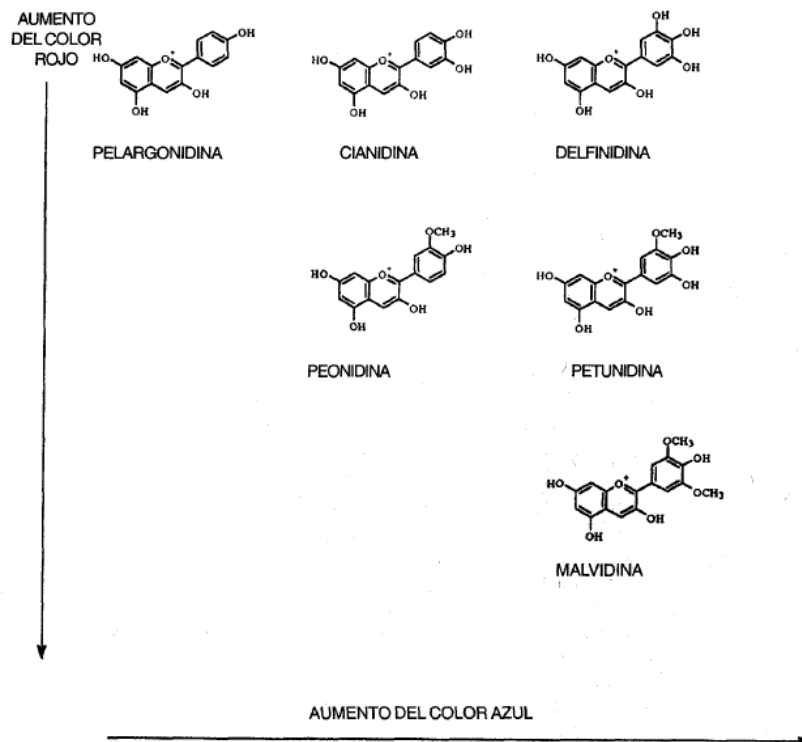


Figura 4. Las antocianidinas más comunes distribuidas en función del aumento del color rojo y disminución del color azul. Fuente: Fennema, 2000.

2.5.3.3 Estructura química

Las antocianinas son hidrolizadas y metoxiladas a partir de fenil-2-benzopirilium o sales de flavilium (Horbowicz *et al.*, 2008). La estructura básica de las antocianinas son las antocianidinas, consisten en un anillo aromático [A] unido a un anillo heterocíclico [C], que contiene oxígeno que está unido por un enlace carbono-carbono a un tercer anillo aromático [B] (Figura 5) (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).

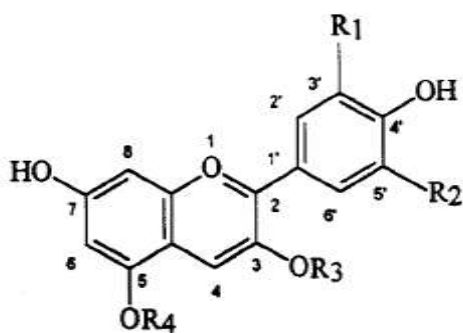


Figura 5. Estructura básica de las antocianinas (catión flavilio). R1 y R2= H, OH o OCH₃, R3 es un glicósido o H y R4 es OH o un glucósido. Fuente: Fennema, 2000.

Las diferencias en la estructura de las antocianinas incluye: número y sustituciones de hidroxilaciones o metoxilaciones en su estructura, en las posiciones 3' y 5' del anillo [B]; número y posición de los residuos de sacáridos unidos a la estructura de la antocianina; y la acilación de azúcares con ácidos aromáticos o alifáticos que se unen durante la acetilación (Galvano *et al.*, 2004; Kong *et al.*, 2003).

2.6 Proantocianidinas

Las proantocianidinas son una subclase importante de flavonoides, que están presentes en muchos frutos y productos como vinos, y té en lo que contribuyen al sabor y otorgan beneficios a la salud de quienes consumen estos productos. Protegen a las plantas de los herbívoros, y actúan como antioxidantes, benéficos en la dieta para la salud humana (Bogs *et al.*, 2007). Las proantocianidinas presentan protección contra el estrés oxidativo y del tabaco.

De acuerdo con el número de composición de elementos, las proantocianidinas pueden ser divididas en dos: las monoproantocinidinas y las poliproantocianidinas (Han *et al.*, 2009).

2.7 Quercetina

La quercetina, en particular es conocida como un poderoso antioxidante, que inhibe el desarrollo de células de carcinoma en pecho de humanos (Butkhup y Samappito, 2008). Morazzoni y Malandrind mencionan que la rutina seguida de la quercetina se comportan como los secuestradores más fuertes de radicales libres (Chaves, 2000). Dentro de los beneficios biológicos, contribuye significativamente en la protección de células neuronales por el estrés oxidativo (Jen-Kun y Meng-Shih, 2006).

2.8 Antioxidantes

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Los antioxidantes son a menudo agentes reductores tales como polifenoles (Suchandra *et al.*, 2007; Sumazian *et al.*, 2010)

Los procesos de oxidación son importantes porque pueden controlar la producción de radicales libres y el mecanismo desbalanceado de antioxidantes de protección que pueden causar enfermedades y acelerar el envejecimiento (Dawidowicz *et al.*, 2006; Sumazian *et al.*, 2010).

El número y la posición de grupos Hidroxi, la glicosilación y otras substituciones determinan la actividad de secuestro de radicales por los compuestos fenólicos. Las diferencias que existen entre la actividad de secuestro de radicales se atribuyen a las diferencias estructurales de hidroxilación, glicosilación y metoxilación (Muñoz-Jáuregui y Ramos-Escudero, 2007).

Las disposiciones estructurales que imparten la mayor actividad antioxidante son la sustitución 3' 4' orto dihidroxi en el anillo B, las disposiciones en posición meta en los

carbonos 5 y 7, el doble enlace entre los carbonos 2 y en combinación con los grupos 4 y 3 hidroxilo. Sin embargo, la sustitución de grupos hidroxilo por glicosilación disminuye la actividad antioxidante. Los grupos *orto-dihidroxi* estructuralmente son los más importantes por presentar una alta actividad (Cai *et al.*, 2006).

Numerosas investigaciones han evaluado la capacidad antioxidante de los flavonoides frente a los radicales libres. Casi todos los resultados coinciden en que los flavonoides con sustituyentes dihidroxílicos en posiciones 3' y 4' en el anillo B se muestran más activos como antioxidantes y que este efecto es potenciado por la presencia de un doble enlace entre los carbonos 2 y 3, un grupo hidroxilo libre en la posición 3 y un grupo carbonilo en la posición 4; como sucede con la quercetina (Zavaleta *et al.*, 2011).

La actividad antioxidante para distintos polifenoles se puede considerar como la actividad biológica responsable del efecto preventivo que se les atribuye sobre determinadas enfermedades frecuentes en los países desarrollados como son las enfermedades cardiovasculares y el cáncer (Miliauskas *et al.*, 2004)

En el Cuadro 4, se muestra la actividad antioxidante de extractos de diferentes frutillas comerciales bajo diferentes metodologías, expresado en μmol de Trolox equivalente.

Cuadro 4. Actividad antioxidante en diferentes frutillas comerciales

Especie	$\mu\text{mol de Trolox g}^{-1}$ de TF
Arándano negro (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	44.6 ¹
Zarzamora (<i>Rubus fruticosus</i>)	35.5 ³
Arándano (<i>Vaccinium corymbosum</i>)	14.0 ²
Arándano rojo(<i>Vaccinium macrocarpon</i>)	39.8 ¹

Lingonberry (<i>Vitis vitis-idea</i>)	31.8 ¹
Frambuesa (<i>Rubus ideaous</i>)	25.3 ³
Grosella (<i>Ribes rugrum</i>)	36.9–93.0 ¹
Fresa (<i>Fragaria x. ananassa</i>)	11.9 ²

ORAC Capacidad de absorbancia del radical oxígeno¹

ABTS 2,2'-Azinobis (3-etilbenzotiazilina-6-ácido sulfónico)²

DPPH 2,2-Difenil-1-picrilhidrasil³

Fuente: Paredes-López, 2010

2.9 Radicales libres

Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre, por lo que son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. La vida media biológica del radical libre es de microsegundos, pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un gran daño a moléculas, membranas celulares y tejidos. Los radicales libres no se eliminan por completo; de hecho, el cuerpo humano los produce en cantidades moderadas para luchar contra bacterias y virus (Avello y Suwalsky, 2006).

Los radicales libres también pueden iniciar la oxidación de biomoléculas tales como proteínas, aminoácidos, lípidos y ADN la cuál puede conducir al daño y muerte de células (Freidovich, 1999; Sumazian *et al.*, 2010).

Desde el punto de vista químico los radicales libres son todas aquellas especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado

o impar en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera gran inestabilidad (Venéreo-Gutiérrez, 2002).

2.10 Alimentos funcionales y nutraceuticos

Un alimento funcional es similar en apariencia a un alimento convencional que se consume como parte de una dieta usual, y se ha demostrado que tiene beneficios fisiológicos y/o reduce el riesgo de enfermedades crónicas más allá de las funciones básicas de nutrición, es decir, contienen compuestos bioactivos (www.agr.gc.ca, 2009).

. Un alimento nutraceutico es un producto aislado o purificado de los alimentos, que se venden generalmente en las formas farmacéuticas, no suelen asociarse con los alimentos. Está demostrado que tienen beneficios fisiológicos o bien proporcionan protección contra las enfermedades crónicas (Alvidrez-Morales *et al.*, 2002; www.agr.gc.ca, 2009). En Europa occidental las ventas de alimentos funcionales crecieron 10.2% anual entre 2004 y 2007, en tanto las de alimentos empacados crecieron 6.3% (Anaya, 2009).

2.11 Degradación de compuestos fenólicos

Otra oportunidad de comercializar las frutas y hortalizas es por medio de productos procesados. Sin embargo, se cree que durante el procesamiento de alimentos tales como la deshidratación y la pasteurización también desempeñan un papel importante en la destrucción de los compuestos bioactivos. Durante el procesamiento de los alimentos, los cambios por factores físicos y biológicos tales como el aumento de la temperatura y la actividad enzimática pueden provocar la destrucción de los compuestos fenólicos como los ácidos fenólicos y antocianinas. Las enzimas como la polifenoloxidasas son responsables de la reacción de oscurecimiento de fenólicos, pero normalmente son

inactivados durante la preparación de mermelada, debido a las altas temperaturas aplicadas (Kim y Padilla, 2004; Hager *et al.*, 2008)

Durante el proceso de transformación, el número de etapas o pasos, la temperatura de calentamiento, y tiempo pueden afectar notablemente el contenido de antocianinas y la capacidad antioxidante de los frutos (Brownmiller *et al.*, 2008).

Kalt *et al.* (2000) mencionan que varios productos comerciales de arándano varían significativamente en la capacidad antioxidante, aunque se desconocían la fuente de la fruta, las formulaciones de productos y técnicas de procesamiento.

Existe poca información sobre los cambios de la capacidad antioxidante de compuestos fenólicos, especialmente de antocianinas, después de su transformación de frutas frescas a las conservas (Kim y Padilla, 2004).

Amakura *et al.* (2000) mencionan que la elaboración de alimentos procesados ha sido reconocida como uno de los principales factores en la destrucción o cambios de fitoquímicos naturales, que pueden afectar la capacidad antioxidante.

Recientemente, las industrias alimentarias y de la medicina preventiva han mostrado mucho interés en encontrar "los antioxidantes naturales" a partir de material vegetal. Los consumidores de ahora están incluyendo los fitonutrientes en su dieta, debido a que estos compuestos antioxidantes puede reducir la incidencia de cáncer, enfermedades cardiovasculares, artritis, y el envejecimiento en general, ya que se correlacionan con los efectos perjudiciales de la producción descontrolada de radicales libres. Muchos alimentos contienen componentes, llamado "nutracéuticos", como compuestos fenólicos, antocianinas y otros flavonoides, que podría desempeñar un papel importante contra este problema (Benvenuti *et al.*, 2004).

III. LITERATURA CITADA

- Alvídrez Morales Alicia; Blanca E.; González Martínez Zacarías y Jiménez S. 2002. Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales. Revista salud pública y nutrición. Vol 3 No.3.
- Amakura Y., Umino Y., Tsuji S. and Tonogai Y. 2000. Influence of jam processing on the radical scavenging activity and phenolic content in berries. J Agric Food Chem. Vol. 48:6292–7.
- Anaya Jorge. 2009. ¿Alimentos “maravillosos”? La jornada. Martes 10 de noviembre 2009. pp. 24. Economist intelligence unit.
- Avello Marcia y Suwalsky Mario. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Atenea 494. II Sem. 2006. 161-172.
- Beckman C.H. 2000. Physiol. Mol. Plant Pathol. 57 (2000) 101.
- Benvenuti S., Pellati E., Melegari M. and Bertelli D. 2004. Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of rubus, ribes and aronia. Journal of Food science Vol. 69 N. 3: 164-169.
- Brownmiller C., L.R. Howard, and R.L. Prior. 2008. Processing and Storage Effects on Monomeric Anthocyanins, Percent Polymeric Color, and Antioxidant Capacity of Processed Blueberry Products. Journal of Food Science. Vol. 73, N. 5.
- Bogs J, Jaffé F W, Takos A M, Walker A. R., Robinson S. P. 2007. The grape vine transcription factor VvMYBPA1 regulates proanthocyanidin synthesis during fruit development. Plant Physiology, 143, 1347-1361.
- Butkhup Luchai and Samappito Supachai. 2008. Analysis of Anthocyanin, Flavonoids, and Phenolic Acids in Tropical Bignay Berries. International Journal of Fruit Science. 8: 1, 15 — 34.
- Cai Y.Z., Sun M., Xing J., Luo Q., Corke H. 2006. Structure-radical scavenging activity relationships of compounds from traditional Chinese medicinal plants. Life Science. 78 (25): 2872-2888.
- Castañeda-Ovando Araceli, Pacheco-Hernández Ma. de Lourdes, Páez-Hernández Ma. Elena, Rodríguez José A. and Galán-Vidal Carlos Andrés. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. Food Chemistry, 113 859–871.

- Chandra S. and González De Mejía E. 2004. Polyphenolic compounds, antioxidant capacity, and quinone reductase activity of an aqueous extract of *Ardisia compressa* in comparison to mate (*Ilex paraguariensis*) and green (*Camellia sinensis*) teas. *Journal Agriculture Food Chemistry*. Jun. 52(11):3583-3589.
- Chaves, G.; Montiel, O.M.; Sgroppo, S.c.; Avanza, J.R. 2000. Capacidad antioxidante de pimientos morrones *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*. Universidad Nacional del Nordeste, Argentina.
- Dawidowicz AL., Wianowska D. and Baraniak B. (2006). The antioxidant properties of alcoholic extracts from *Sambucus nigra* L. (antioxidant properties of extracts). *LWT* 39: 308-315.
- Dicko M. H., Gruppen, H., Traoré, A. S., Voragen, A. G. J. and Van Berkel, W. J. H. 2006. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use. *Biotechnology and Molecular Biology Review*, Vol. 1 (1): 21-38.
- Eder A. 2000. Pigments in food analysis by HPLC. (Nollet M.L.L. eds.) Marcel Dekker, New York, pp. 845-880.
- Farah, A. and Marino, C. D. 2006. Phenolics compounds in coffee. *Brazilian Journal of plant physiology*, 18 (1): 23-26.
- Fenema, O. R., 2000. *Química de los alimentos*. Segunda edición, editorial Acribia, S. A. España, 1258 p.
- Freidovich, I. 1999. Fundamental aspects of reactive oxygen species or what's the matter with oxygen?. *Ann. New York Academy Sci.* 893: 13.
- Galvano, F., La Fauci, L., Lazzarino, G., Fogliano, V., Ritieni, A., Ciappellano, S., Battistini, N. C., Tavazzi, B. and Galvano, G. 2004. Cyanidins: metabolism and biological properties. *Journal of Nutritional Biochemistry*, Vol. 15: 2-11.
- González De Mejía E., Chandra S, Ramirez-Mares M. V., and Wang W. 2006. Catalytic inhibition of human DNA topoisomerase by phenolic compounds in *Ardisia compressa* extracts and their effect on human colon cancer cells. *Food Chem Toxicol.* Aug; 44(8):1191-203.
- González De Mejía E., Ramírez-Mares M.V., Arce-Popoca E., Wallig M. and Villa-Treviño S. 2004. Inhibition of liver carcinogenesis in Wistar rats by consumption of an aqueous extract from leaves of *Ardisia compressa*. *Food Chem Toxicol.* Mar; 42(3):509-16.
- Hager A., Howard L.R., Prior R.L., and C. Brownmiller. 2008. Processing and Storage Effects on Monomeric Anthocyanins, Percent Polymeric Color, and Antioxidant Capacity of Processed Black Raspberry Products.

- Han Lei, Dong Bao-cheng, Yang Xiao-Ji, Huang Cheng-bin, Wuang Xu-dong and Wu Xian-Jun. 2009. Study on Flavonoids in the Caryopsis of Indica Rice. *Agricultural Sciences in China*. 2009, 8(2): 249-256.
- Harborne J.B.1982. *Introduction to Ecological Biochemistry*, second ed., Academic Press, New York, NY.
- Hernández García Ariadna. 2007. Caracterización del proceso de elaboración del vino de fruto chagalapoli (*Ardisia compres* K.) de la región de los Tuxtlas, Veracruz. Tesis.
- Horbowicz Marcin, Kosson Ryszard, Grzesiuk Anna and Debski Henryk. 2008. Anthocyanins of fruits and vegetables- their occurrence, analysis and role in human nutrition. DOI: 10.2478/v10032-008-0001-8. 2008 vol. 68, 5-22.
- Jen-Kun Lin and Meng-Shih Weng. Flavonoids as nutraceuticals. Chapter 8. 2006. Institute of Biochemistry and Molecular Biology, College of Medicine, National Taiwan University. No. 1, Section 1, Jen-ai Road, Taipei, Taiwan.¹Corresponding author; E-mail: jklin@ha.mc.ntu.edu.tw.
- Kalt W, McDonald J. E. and Donnor H. 2000. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity of processed lowbush blueberry products. *J Food Sci* 65:390–3.
- Kim D. O. and O.I. Padilla-Zakour. 2004. Jam Processing Effect on Phenolics and Antioxidant Capacity in Anthocyanin-rich Fruits: Cherry, Plum, and Raspberry. *Journal of food science*. Vol. 69, Nr. 9.
- Kobayashi Hideka and González De Mejía Elvira. 2005. The genus *Ardisia*: a novel source of health-promoting compounds and phytopharmaceuticals. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 96. 347–354.
- Konczak, I., and Zhang, W. (2004). Anthocyanins-more than natures colours (2004). *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2004(5), 239–240.
- Kong, J. M., Chiam, L.S., Goh, N. K., Chia, T. F. Brouillard. 2003. Analysis and biological activities of anthocianins. *Phytochemistry* 64: 923-933.
- Lule, S. U., & Xia, W. (2005). Food phenolics, pros and cons: A review. *Food Reviews International*, 21(4), 367–388.
- Martínez Valverde Isabel, Jesús Periago María y Ros Gaspar. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenolicos de la dieta. *Archivos lationoamericanos de nutrición*. Vol. 50 (1).
- Miliauskas, G.; Venskutonis, P.R. y van Beek, T. A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*. 85: 231 – 237.

- Moreno Álvarez Mario José, Vilorio Matos Alfredo, López Eliézer, Douglas Belén. 2002. Estabilidad de las antocianinas en jugos pasteurizados de mora (*Rubus glaucus benth*). Archivos latinoamericanos de nutrición. Vol. 52 (2).
- Muñoz Jáuregui Ana María y Ramos Escudero Fernando. 2007. Componentes fenólicos de la dieta y sus propiedades biomedicinales. Revista Horizonte Médico. Volumen 7, N° 1. 23-31.
- Naczek Marian y Shahidi Fereidoon. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography A, 1054 (2004) 95–111.
- Nicholson R. y Hammerschmidt R. 1992. Annu. Rev. Phytopathol. 30 (1992) 369.
- Nichenametla, S. N., Taruscio, T. G., Barney, D. L., y Exon, J. H. (2006). A review of the effects and mechanisms of polyphenolics in cancer. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 46(2), 161–183.
- Oh Y.S., Lee J.H., Yoon S.H., Oh C.H., Choi D.-S., Choe E., and Jung M.Y. 2008. Characterization and Quantification of Anthocyanins in Grape Juices Obtained from the Grapes Cultivated in Korea by HPLC/DAD, HPLC/MS, and HPLC/MS/MS Journal of Food science. Vol. 73, N. 5.
- Paredes-López Octavio, Cervantes-Ceja Martha L., Vigna-Pérez Mónica y Hernández-Pérez Talía. 2010. Berries: Improving Human Health and Healthy Aging, and Promoting Quality Life- A Review. Plant Foods Hum Nutr. 65:299–308. DOI 10.1007/s11130-010-0177-1.
- Pazmino-Duran, A. E., Giusti, M. M., Wrolstad, R. E., y Gloria, B. A. (2001). Anthocyanins from oxalis triangularis as potential food colorants. Food Chemistry, 75(2), 211–216.
- Pérez Trueba Gilberto. 2003. Flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. Rev. Cubana Invest Biomed: 22(1):48-57. Centro de investigaciones biomédicas. Instituto de ciencias básicas y preclínicas.
- Pridham J.B. 1960. Phenolics in Plants in Health and Disease, Pergamon Press, New York, NY.
- Po Yang Yuen. 1989. Short comments on Ardisia (*Myrsinacea*) of Eastern Asia. Bot. Bull. Academia Sinica. 30: 297-298.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N. y Gordon, M. Antioxidantes en los alimentos aplicaciones prácticas. Ed. ACRIBIA, S.A., Zaragoza, España. 2001. 110-117 pp.

- Ramirez-Mares M V, Chandra S, de Mejia EG. 2004. In vitro chemopreventive activity of *Camellia sinensis*, *Ilex paraguariensis* and *Ardisia compressa* tea extracts and selected polyphenols. *Mutaton Research*. Oct 4; 554(1-2):53-65.
- Ross, K. A., Beta, T. y Arntfield, S.D. 2009. A comparative study on the phenolic acids identified and quantified in dry beans using HPLC as affected by different extraction and hydrolysis methods. *Food Chemistry*, Vol. 113 (1): 336-344.
- Shahidi, F. y Ho, C. T. 2005. Phenolic Compounds in Foods and Natural Health Products: An Overivew In *Phenolic Compounds in Foods and Natural Health Products*, Chapter 1: 1-8. ACS Symposium Series, Volume 909, Publication Date (Print): July 21, 2005.
- Shahidi F. y Naczk M. 2004. Phenolics in Food and Nutraceuticals: Sources, Applications and Health Effects, CRC Press, Boca Raton,FL.
- Suchandra C, Zareena N, Gautam S, Soumyakanti A, Prasad SV and Arun S (2007). Antioxidant activity of some phenolic constituents from green pepper (*Piper nigrum* L.) and fresh nutmeg mace (*Myristica fragrans*). *Food Chemistry*. 101: 515-523.
- Supachai Samappito and Luchai Butkhup. 2010. Analysis of Anthocyanin, Flavonoids, and Phenolic Acid Contents of Ten Fruits and Antioxidant Activity. *International Journal of Fruit Science*, 10:264–280.
- Sumazian Yusuf, Syahida Ahmad, Hakiman Mansor and Maziah Mahmood. 2010. Antioxidant activities, flavonoids, ascorbic acid and phenolic contents of Malaysian vegetables. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 4(10), pp. 881-890.
- Szajdek Agnieszka y Borowska. E. J. 2008. Bioactive Compounds and Health-Promoting Properties of Berry Fruits: A Review. *Plant Foods Hum Nutr* (2008) 63:147–156. DOI 10.1007/s11130-008-0097-5.
- Tosun M., Ercisli S., Karlidag H., and Sengul M.2009. Characterization of Red Raspberry (*Rubus idaeus* L.) Genotypes for Their Physicochemical Properties. *Journal of food science*. Vol. 74, N. 7.
- Venéreo Gutiérrez Justo R. 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana Med Milit*. Vol.31 (2):126-133.
- Agriculture and Agri-Food Canadá. What are Functional Foods and Nutraceuticals? Source: International Food Information Council. <http://www4.agr.gc.ca/AAFC-AAC/display-afficher.do?id=1171305207040&lang=eng>. 09/12/2009.
- Williams, L. O. (1966). Chief Curator, Botany, Chicago Natural. History Museum. Myrsinaceae by Cyrus Long Lundel worth. *Fieldiana: Bonaty*. 1 and 2 published by Chicago Natural History, (Chapter 8).

Wu, X., G. Cao, y R.L. Prior. 2002. Absorption and metabolism of anthocyanins in elderly women after consumption of elderberry or blueberry. J. Nutr. 132:1865–1871.

Zavaleta Juana, Muñoz Ana María, Blanco Teresa, Alvarado-Ortiz Carlos, Loja Bertha. 2011. Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. Código de proyecto. # 10012004003. Consultado: 27-05-2011. http://www.usmp.edu.pe/medicina/horizonte/2005_II/Art4_Vol5_N2.pdf

CAPÍTULO 1. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL FRUTO CHAGALAPOLI (*Ardisia compressa* K.) Y EFECTO DEL PROCESAMIENTO SOBRE SUS POLIFENOLES

PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF “CHAGALAPOLI” (*Ardisia compressa* K.) FRUITS, AND EFFECT OF JAM PROCESSING ON POLYPHENOLICS

Joaquín-Cruz Elvia¹, Y. Salinas-Moreno²

RESÚMEN

El fruto *Ardisia compressa* Kush. (ACK) es un fruto tropical de color púrpura intenso con agradable sabor agri dulce. Los objetivos de este estudio fueron: a) cuantificar el contenido de fenoles solubles totales (FST), antocianinas totales (AT) y actividad antioxidante (AA) del fruto chagalapoli (ACK), así como su perfil de antocianinas y ácidos fenólicos (AF); b) Cuantificar el efecto del tratamiento térmico sobre los fenoles en la mermelada. Los FST se cuantificaron por Folin-Ciocalteu y las antocianinas por espectrofotometría. El perfil de las antocianinas de fruto y ácidos fenólicos se determinó por HPLC. El fruto ACK presentó una composición química proximal similar a las frutillas comerciales. Su contenido de FST fue de 826.8 mg EAG/100 g de fruto; de los cuales 96% son antocianinas. La principal antocianina de ACK encontrada fue peonidina 3-glucósido. De los ácidos fenólicos que se cuantificaron, el ácido p-hidroxibenzoico es el que se encontró en mayor concentración. ACK presentó mayor actividad antioxidante comparada con las demás frutillas. El proceso de elaboración de la mermelada, redujo un 41% para la FST y 56% de las AT. De acuerdo con los resultados, el fruto ACK presenta un alto contenido de compuestos fenólicos, sin embargo, al ser transformado en mermelada su aporte de antioxidantes se ve reducido.

Palabras clave: antocianinas, fenoles solubles totales, actividad antioxidante, HPLC, mermelada.

ABSTRACT

The fruit *Ardisia compressa* Kush. (ACK) is a tropical fruit with intense purple color nice bittersweet. The aim of this study was: a) quantify the total soluble phenolic content (FST), total anthocyanins (TA) and antioxidant activity (AA) of the fruit chagalapoli (ACK) and profile of anthocyanins and phenolic acids (FA); b) quantify the effect of heat treatment on the phenols in the jam. The FST were quantified by Folin-Ciocalteu and anthocyanins by spectrophotometry. The profile of the fruit anthocyanins and phenolic acids were determined by HPLC. The fruit presented ACK a similar proximate chemical composition to commercial strawberries. Its content was 826.8 mg TPC EAG/100 g of fruit, of which 96% are anthocyanins. The main anthocyanin peonidin ACK is 3-glucoside. Among the phenolic acids quantified, p-hydroxybenzoic acid is found in highest concentration. ACK had higher antioxidant activity compared with other fruit. The process of making jam, reduced by 41% the FST and 56% of the AT. According to the results, the ACK fruit has a high content of phenolic compounds, however, when is transformed into jam its antioxidant intake is reduced.

Keywords: anthocyanins, total soluble phenolics, antioxidant activity, HPLC, Jam

1. INTRODUCCIÓN

El género *Ardisia*, pertenece a la familia de las Myrsinaceae, aproximadamente 500 especies se encuentran en todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Kobayashi y González de Mejía, 2004). En México, *Ardisia compressa* Kush (ACK) se puede encontrar en zonas de clima tropical húmedo en los estados de Sinaloa, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Oaxaca y Veracruz. Los frutos son pequeños de color púrpura y son materia prima para la elaboración de licores, bebidas y conservas en las regiones donde son cultivadas. El nombre local para este fruto es Chagalapoli o capulincillo de mayo.

Existen datos sobre los compuestos fitoquímicos presentes en hojas de *Ardisia compressa* Kush, los cuales han reportado la presencia de algunos grupos fitoquímicos biológicamente activos como las saponinas, cumarinas y quinonas (Kobayashi y González, 2004). En un análisis de composición de fenoles en las hojas se encontraron la presencia de ácido gálico, clorogénico y derivados de mircetina y quercetina (Chandra y González, 2004; Newell *et al.*, 2010).

Estudios recientes indican que frutos de ACK presenta un alto contenido de antocianinas (Salinas-Moreno *et al.*, 2008), por lo que presentan alta actividad antioxidante debido a estos fenoles (Kähkönen y Heinonen, 2003), su consumo podría incrementar la capacidad antioxidante en la dieta entre la población rural y en áreas tropicales de México.

No existe información acerca de la caracterización química de este fruto, tampoco sobre el efecto del tratamiento térmico sobre los fitoquímicos de este fruto. Los objetivos de este estudio fueron: determinar la composición fisicoquímica de frutos en estado de madurez comestible y evaluar el contenido de fenoles en una conserva a base de este fruto.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material vegetal

Frutos de *Ardisia compressa* Kush (ACK) fueron recolectados manualmente en mayo de 2010 en una pequeña población localizada en San Andrés Tuxtla, Veracruz (18° 27" latitud N, y 95° 13" longitud este, y 300 metros de altitud). Se cosecharon 100 gramos de frutos aproximadamente de cada árbol de diferente parcela. Teniendo una colecta final de 12 kg aproximadamente. Los frutos fueron guardados bajo refrigeración para su análisis en laboratorio.

Por otro lado fresas, arándanos y zarzamora se adquirieron en el mercado, provenientes de la casa productora Driscoll's, los cuales fueron usados como controles. A estas muestras se les cuantificó el contenido total de antocianinas (CTA), contenido total de fenoles (CTF) y actividad antioxidante (AA).

2.2 Caracterización fisicoquímica del fruto

2.2.1 Color

Se maceraron 100 g de fruto, se colocó en una caja petri y se midió el color con el colorímetro Hunter Lab MiniScan XE Plus (Modelo 45/O-L), usando la escala CIE Lab. Obteniendo los parámetros de Luminosidad, "*a**" y "*b**" que se usaron para calcular Hue y Chroma (Mcguire, 1992).

$$HUE = Arc \tan \frac{b^*}{a^*}$$

$$Chroma = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

2.2.2 Tamaño, peso y proporción de pulpa-hueso

Se tomaron 30 frutos al azar, a los cuales se les midió el diámetro con un vernier; se pesó el fruto completo y después se separó el hueso y se pesó.

2.2.3 Sólidos Solubles Totales

El jugo de fruta fue usado para determinar los sólidos solubles totales (°bx), siguiendo la metodología de la AOAC (1998), con la ayuda de un refractómetro con escala de 0 a 93 % (PAL-3, Pocket refractometer ATAGO, Tokyo, Japan).

2.2.4 pH

El pH del jugo del fruto fue medido con un potenciómetro (MI 255 Hanna Instruments, Woonsocket, RI, USA), según la AOAC (1998).

2.2.5 Acidez titulable

La acidez titulable se evaluó por el método de titulación con hidróxido de sodio, propuesto por la AOAC, (1998). Se tomaron 5 g de pulpa y se maceró con 50 mL de agua destilada, se filtró para eliminar el tejido; se tomaron 5 mL y se tituló con NaOH 0.1 N, usando el pH de vire de la fenolftaleína (8.3-8.6) como punto final de la titulación. La acidez se expresó como porcentaje de ácido tartárico que es el ácido de mayor presencia en este fruto y se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ _ácidoTartñarico} = \frac{mL_de_NaOH * N * 0.075 * FD}{mL_de_muestra} * 100$$

Dónde:

mL de NaOH= el gasto obtenido en la titulación

N= Normalidad del NaOH

0.075= peso en miliequivalentes del ácido tartárico

FD= factor de dilución de la muestra

2.3 Análisis proximal

Para el análisis proximal (% de humedad, nitrógeno, extracto etéreo, cenizas y fibra cruda) se utilizó la metodología establecida por la AOAC (1998). El porcentaje restante fue considerado como carbohidratos. El factor de conversión para proteína total fue de 6.25 ($N \times 6.25$). El contenido de minerales fue determinado con digestión $\text{HClO}_4/\text{HNO}_3$ (Jones & Case, 1990) mediante espectrofotometría de emisión de flama (3000SC Perkin Elmer, Wellesley, MA, USA).

2.4 Compuestos fenólicos

2.4.1 Extracción

Los fenoles del fruto fueron extraídos de la siguiente manera: 1 g de pulpa macerada fue pesada y colocada en un matraz Erlenmeyer y se le agregó 20 mL de metanol acidificado al 1% con ácido trifluoroacético (TFA). Se mezcló agitando manualmente, enseguida las muestras fueron sonicadas (Brason model 2510) por 30 min para luego poner en agitación por 2 horas en un agitador horizontal a temperatura ambiente (± 24 °C). Transcurrido este tiempo, la muestra fue centrifugada a 1431 g por 15 min en una centrifuga (Hettich zentrifugen, Mod. Universal 32), se separó el sobrenadante del residuo y se filtró con papel Whatman N°1. El sobrenadante fue guardado y al residuo se le realizaron dos extracciones más, usando como solvente de extracción metanol, ácido acético, agua (10:1:9 v/v/v), bajo el mismo procedimiento que en la primera extracción. El sobrenadante de las tres extracciones se juntaron y se aforó a un volumen final de 100 mL con metanol: ácido acético: agua.

2.4.2 Fenoles solubles totales

Se realizó por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu como lo describe Makkar (2002), a una cantidad conocida de extracto fenólico (100 µL) se le agregaron 125 µL de reactivo F-C y se dejó reaccionar por 6 minutos, después se neutralizó la reacción con 1250 µL de solución saturada de Na₂CO₃ (19 %) y se ajustó a un volumen final de 3 mL con agua destilada. La mezcla fue agitada en un vortex y se dejó reposar en oscuridad por 90 minutos. Se centrifugaron las muestras a 1431g por 5 minutos. La absorbancia fue medida a 760 nm. Se preparó una curva estándar de ácido gálico a diferentes concentraciones para cuantificar los fenoles solubles totales.

2.4.3 Contenido de antocianinas totales (CTA)

La absorbancia del extracto fenólico fue medida a 520 nm en un espectrofotómetro Perkin-Elmer. El contenido de antocianinas totales fue expresado en términos de cianidina 3-glucósido (CG), dicho estándar fue usado para elaborar una curva estándar (Salinas-Moreno *et al.*, 2005).

2.4.4 Análisis de antocianinas en HPLC

La extracción de antocianinas para el análisis en HPLC se realizó pesando 1 g de pulpa macerada, que se colocó en un matraz Erlenmeyer y se agregaron 20 mL de metanol acidificado al 1% con ácido trifluoroacético (TFA). Se mezcló agitando manualmente, enseguida se sonicó la mezcla para luego por 30 min para luego poner en agitación por 2 horas en un agitador horizontal. Posteriormente la muestra fue centrifugada a 1431 g por 15 min en una centrifuga (Hettich zentrifugen, Mod. Universal 32), y se separó el sobrenadante del residuo, se filtró usando papel Whatman N°.1.

Para el análisis de antocianinas del jugo de ACK se utilizó el equipo de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) marca Perkin Elmer series 200, con bomba

cuaternaria y un automuestreador. Como fase estacionaria se utilizó una columna analítica ODS-Hypersil (200 x 5 mm) con tamaño de partícula de 5 µm en fase reversa. Dicho análisis se llevó a cabo usando dos fases móviles: HCOOH/H₂O (1:9) (A) y HCOOH/H₂O/MeOH (1:4:5) (B), bajo un sistema de gradientes: gradiente lineal de 10% B a 100% B por 17 min, elución isocrática por los siguientes 4 min (100% B), seguido de un gradiente lineal de 100% B a 10% B por 1 min (Fossen *et al.*, 2001). Los solventes usados fueron grado HPLC, y previamente filtrados con una membrana de 0.2 µm de nylon (Millipore, Bedford, MA). Las muestras fueron filtradas en un acrodisco de 0.45 µm (Millipore, Bedford, MA) después inyectadas al equipo. El volumen inyectado fue de 10 µL, con flujo de 1.2 mL min⁻¹, y un tiempo de corrida de 22 minutos. Las antocianinas fueron detectadas a 530 nm e identificadas usando estándares comerciales de: Cianidina 3-glucósido, pelargonidina 3-glucósido, peonidina 3-glucósido, malvidina 3-glucósido (Polyphenols, NW) y Cianidina 3-rutinosido (Extrasynthese); la delfinidina 3-glucósido se aisló de la cáscara de la berenjena (*Solanum melongena*).

Para el análisis de las antocianidinas se siguió lo descrito por Pascual-Teresa *et al.*, (2002). Brevemente una alícuota de 2 mL del extracto de antocianinas y 2 mL de HCl 6 M fueron puestos en un matraz Erlenmeyer de 50 mL, que se colocó a ebullición por 40 min. La muestra se dejó enfriar y se llevó a sequedad bajo temperatura y presión reducida en un rotavapor (Heidolph 2, Laborata 4010, Germany). La muestra fue resuspendida en 2 mL de HCl 0.01M y filtrada en un acrodisco de 0.45 µm (Millipore, Bedford, MA) con la ayuda de una jeringa, antes de ser inyectada al HPLC. El análisis fue conducido bajo las mismas condiciones que las antocianinas. Las antocianidinas son muy inestables por lo que el análisis se efectuó inmediatamente después de procesarlas.

Para identificar en el extracto de antocianinas de ACK aquellas de tipo acilado, se utilizó

la metodología descrita por De Pascual-Teresa *et al.* (2002), que consistió en realizar una hidrólisis alcalina empleando 1 mL del extracto de antocianinas, al que se le añadió KOH al 10% hasta lograr un cambio en la coloración de rojo a azul, se dejó reposar la muestra durante 10 min en oscuridad. Pasado el tiempo, se le agregó HCl 5N hasta obtener nuevamente el color rojo. La muestra obtenida se colocó en un matraz de decantación con una cantidad similar de éter etílico o dietiléter para separar las antocianinas de los residuos acilados liberados durante la hidrólisis (los cuales se hallaban en la fase orgánica). La fase acuosa se concentró a sequedad en un rotavapor a presión reducida. La muestra se re-disolvió en una pequeña cantidad de HCl 0.01 M y posteriormente se filtró con un filtro Millex 0.45 μm (Millipore, corporation, M. A.) para ser inyectada en el HPLC.

2.5 Análisis de ácidos fenólicos

La extracción de las tres formas de ácidos fenólicos (libres, glucosilados y esterificados), se hizo por duplicado, adaptando el método de Bakan *et al.* (2003). Se pesó 0.2 g de tejido fresco (pulpa macerada del fruto en mortero), se agregaron 15 mL de MeOH al 80% como disolvente, se sonicó por 15 minutos, para luego poner en agitación por 45 minutos. Se decantó el sobrenadante y el residuo se re-extrajo con 15 mL del disolvente usado en la primera extracción, pero en este caso, únicamente se agitó la muestra por una hora. Se juntaron los extractos y se concentraron a temperatura y presión reducida en un rotavapor (Heidolph 2 Modelo Laborata 4010 Germany) para eliminar parte del metanol hasta tener alrededor de 5 mL del extracto al que se agregó agua destilada para tener un volumen de 20 mL. A esta solución acuosa se le ajustó su pH 2.0 con HCL y/o NaOH 2N.

A la solución acuosa se le realizaron dos extracciones líquido/líquido con 20 mL de acetato de etilo, para recuperar los ácidos libres (fase orgánica) la que se evaporó a sequedad en el rotavapor y se re- suspendió en 1 mL de MeOH HPLC.

La fase acuosa (fase inferior) fue medida y aforada nuevamente con agua destilada a un volumen de 20 mL, se dividió en dos volúmenes iguales, agregando a una de las fracciones 10 mL de HCl 2N para extraer los ácidos glucosilados y a la otra fracción 10 mL de NaOH 2N para obtener los ácidos esterificados. La fase con HCl se almacenó a 4°C durante una hora, mientras que la fase con NaOH se almacenó en oscuridad a temperatura ambiente durante tres horas. Posteriormente, ambos extractos se ajustaron a un pH de 2.0 y se hizo una extracción líquido /líquido con 20 mL de acetato de etilo para separar los fenoles en la fase superior. Esta fase se concentró a sequedad y se resuspendió en 1 mL de MeOH HPLC, se almacenó a -20 °C para su cuantificación.

2.5.1 Cuantificación

La cuantificación de cada uno de los tres grupos de ácidos fenólicos extraídos (libres, glucosilados, esterificados), se realizó por el método colorimétrico de Folin-ciocalteu como lo describe Makkar (2002).

2.5.2 Identificación de los compuestos fenólicos por HPLC

La identificación de los compuestos fenólicos se realizó a partir del extracto de fenoles resuspendidos en 1 mL de MeOH, usando un equipo marca Perkin Elmer Series 200, que consta de una bomba cuaternaria con degasificador, un horno, un detector UV-VIS con arreglo de diodos y un automuestreador. Estos equipos son controlados por una CP mediante el software Total Chrom. La fase móvil fue metanol: ácido acético: agua (25:1:75 v/v). Se usó una columna analítica Hypersil ODS.2 (250x46 mm) con tamaño de partícula de 5 µm con flujo de 1 mL min⁻¹. El tiempo de corrida fue de 25 minutos, la

detección de los ácidos fenólicos se hizo a 254 y 320 nm, a una temperatura en columna de 30 °C.

Para la identificación y cuantificación de los ácidos fenólicos, se prepararon curvas estándares de testigos comerciales de los ácidos gálico, protocatecuico, p-hidroxibenzóico, vanílico, caféico y siríngico (marca Sigma Aldrich), disueltos en MeOH en un rango de concentración de 5, 10, 15 y 20 ppm.

Cada estándar se filtró con un acrodisco de Nylon de 0.45 µm (millipore Millex-HN) antes de ser inyectadas al HPLC.

2.6 Actividad antioxidante

A) DPPH•

Del extracto metanólico (EM) de las frutillas se tomaron alícuotas para realizar actividad antioxidante. El proceso usado fue una adaptación de lo que describe Soler *et al.* (2000). Se tomaron 200 µl del EM a diferentes concentraciones, y cada una se mezcló con 2.8 mL de DPPH al 60 µM (1,1 diphenyl-2- picryl-hydrazil) para obtener un volumen de de 3 mL. La absorbancia inicial fue la mezcla de 2.8 mL de DPPH al 60 µM y 200 µL de MeOH al 80 %, medida en un espectrofotometro (Perkin-Elmer, Lambda 25) a 515 nm. Los cambios en la absorbancia después de mezclar la alícuota con el DPPH fueron medidos en intervalos de 1, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutos. Cada concentración de la muestra se realizó por duplicado.

El porcentaje de inhibición del DPPH fue calculado usando la ecuación siguiente: % de inhibición= $[C-S]/C \times 100$, donde C es la absorbancia del control y S es la absorbancia de la muestra. Se graficó concentración vs % de inhibición, y se realizó una regresión logarítmica para obtener el IC₅₀. Valores bajos de IC₅₀ indican una gran actividad antioxidante (Einbond *et al.*, 2004).

Determinación expresada en concentración de trolox equivalente usando DPPH.

Se tomaron 100 μL del EM y se mezcló con 2.9 mL de DPPH al 60 μM (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazil) para obtener un volumen de 3 mL. La absorbancia inicial fue la mezcla de 2.8 mL de DPPH al 60 μM y 200 μL de MeOH al 80 %, medida en un espectrofotómetro (Perkin-Elmer, Lambda 25) a 515 nm. Los cambios en la absorbancia después de mezclar la alícuota con el DPPH fueron medidos en intervalos de 1, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 min.

Para saber la concentración en Trolox Equivalente, se hizo una curva estándar graficando concentración vs % de inhibición, se aplicó una regresión lineal y se obtuvo una ecuación.

B) ABTS

Se realizó con base en la metodología descrita por Re *et al.* (1999), con algunas adaptaciones. Se preparó una solución de ABTS, 2,2-Azino-bis (3-Etilbentiazoline-6-ácido sulfónico) Sigma, 7 mM con agua destilada (Solución A). Por otro lado se hizo una solución 2.45 mM de persulfato de potasio con agua destilada (Solución B). Después se mezclaron la solución A y B, se agitó perfectamente y se almacenó en un ambiente oscuro a temperatura ambiente por 16 horas (solución stock). La solución stock se diluyó con metanol hasta obtener una absorbancia de 0.70 (0.02) a 734 nm, esto se realizó el día de análisis.

Por otro lado se hizo una curva estándar con Trolox (6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilcromano-2-carboxílico), se preparó una solución de Trolox a una concentración de 500 μM , de ésta se realizaron diferentes diluciones (400, 300, 200, 100, 50 μM), se midió la absorbancia a 734 nm. El porcentaje de inhibición se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \left(1 - \frac{A_t}{A_r}\right) \times 100$$

Donde A_t es la absorbancia de la muestra y A_r es la absorbancia de la referencia. Se graficó concentración vs % de inhibición, se realizó una regresión lineal y se obtuvo una ecuación para calcular la concentración de la muestra problema.

2.7 Cuantificación de proantocianidinas

Para la extracción se aplicó la metodología descrita por Prior *et al.* (2010) con algunas adaptaciones. En un matraz Erlenmeyer de 125 mL se depositaron 0.2 g de fruta fresca macerada sin hueso, se añadieron 20 mL, de disolvente (acetona: agua desionizada: ácido acético; 75:24.5:0.5), se agitó manualmente la muestra. Después se sonicó por 30 min, para luego ponerse en agitación por una hora. Posterior a esto se decantó el sobrenadante y se centrifugó por 10 min a 4000 rpm, se filtró el sobrenadante con la ayuda de un filtro Whatman No.4. Se realizaron dos extracciones y se aforó a 50 mL.

Para la cuantificación se siguió la metodología de Wallace y Giusti (2010) con algunas modificaciones. Se preparó reactivo de Dmac al 2% con MeOH HPLC acidificado con ácido sulfúrico al 6N.

Se mezcló 2380 μ L de MeOH+20 μ L del extracto+ 100 μ L de Dmac y se agitó para desarrollar la reacción colorimétrica, después se dejó reaccionar por 25 minutos en oscuridad a temperatura ambiente, y se midió la absorbancia a 640 nm.

2.8 Elaboración de la mermelada

Los frutos fueron limpiados de hojas y lavados; posteriormente 7 kg aproximadamente de frutos fueron pasados en una despulpadora marca JERSA, donde se

le retiró el hueso y se obtuvo 2.5 kg de pulpa y piel aproximadamente. Para la elaboración de la mermelada se siguió la metodología descrita por Kim y Padilla (2004), en las siguientes proporciones: 50% de fruta, 48% de azúcar, 2% pectina and 0.1% benzoato de sodio como conservador.

La pulpa se colocó en una olla y se llevó a ebullición (102-104 °C) por 10 min para evaporar el agua, después se agregó la mitad del azúcar y se mantuvo bajo estas condiciones y agitando constantemente por 15 min, después de esto se agregó el resto del azúcar y la pectina, se mantuvo a ebullición por 10 min hasta obtener de 60-68 °Bx. Se agregó benzoato de sodio como conservador antes de ser envasados. No hubo necesidad de agregar ácido cítrico ya que una característica de este fruto es que presenta un pH bajo, por lo que presentó el pH adecuado para la gelificación. La mermelada fue envasada en 16 frascos de vidrio de 130 mL, después se dejó en un cuarto a temperatura ambiente, bajo condiciones de comercialización.

2.8.1 Efecto del proceso de elaboración de la mermelada de ACK sobre sus compuestos fenólicos

Las variables medidas en la mermelada fueron: fenoles solubles totales, antocianinas totales y actividad antioxidante. Todas las variables fueron determinadas con la misma metodología que se aplicó en el fruto.

2.9 Análisis estadístico de datos

Los datos de la caracterización del fruto representan la media de tres repeticiones. Las variables de estudio de la mermelada representan la media de dos repeticiones.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Descripción del fruto

Los frutos presentaron un diámetro de 0.8 a 1.5 cm, de color púrpura intenso, jugoso y con textura suave. La semilla representó un 33.3% del peso fresco del fruto. En la Figura

1. Se muestran las flores y dos estados de madurez del fruto de ACK, así como su hueso.

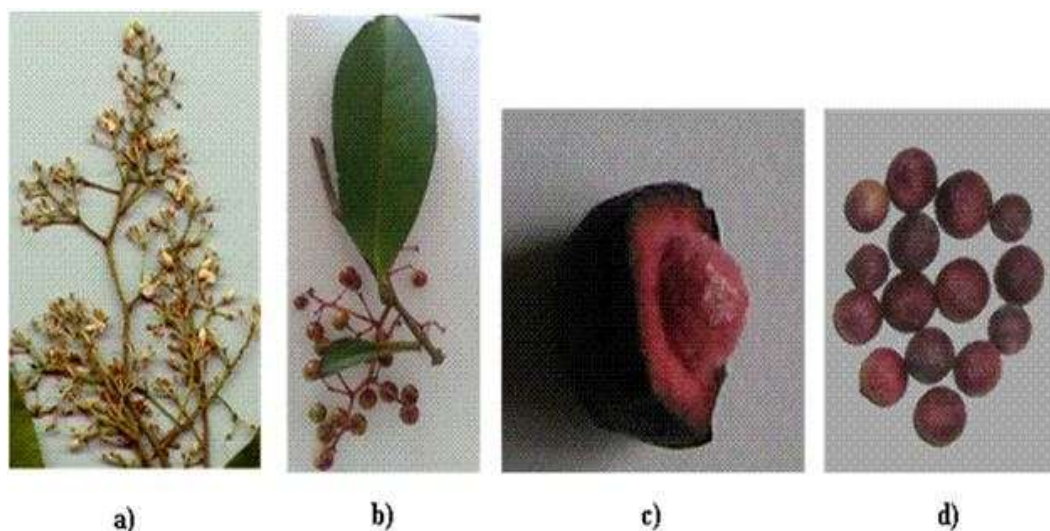


Figura 1. a) Flores b) Frutos inmaduros c) Frutos maduros d) Semillas de *Ardisia compressa* Kush.

Las características físicas de los frutos son mostrados en el Cuadro 1, donde se observa una gran variabilidad en su tamaño y peso, ya que se tiene una desviación estándar elevada en ambas variables. Esta variabilidad en el tamaño de los frutos es característica en frutales nativos o silvestres que no sido sometidos a ningún mejoramiento genético. Los parámetros de color corresponden a un fruto rojo oscuro,

con valores de Hue° de 10.6. El bajo valor de croma habla de un tono de color con un índice de saturación elevado.

Cuadro 1. Características físicas de los frutos de *Ardisia compressa* Kush (ACK).

^a Tamaño de los frutos		^b Parámetros de color	
Diámetro del fruto (cm)	1.25±0.41	L*	16.1±0.39
Peso del fruto (g)	0.43±0.21	Chroma	0.9±0.05
Diámetro de la semilla (cm)	0.71±0.32	Hue°	10.6±0.12
Pulpa/semilla	66.74/33.25		
^a Media±desviación estándar obtenido del análisis (n=30). ^b Media±desviación estándar obtenido del análisis (n=3).			

3.2 Composición química del fruto ACK

Los frutos de ACK tuvieron un pH de 2.73±0.01, más bajo que el obtenido para zarzamora, arándanos y fresas; considerando que el valor de los SST en frutos de ACK fue comparable con los valores en fresa y zarzamora, pero más bajo que en arándanos. La acidez titulable del jugo del fruto de chagalapoli fue de 2.56±0.03 %, valor más alto que las demás frutillas (Cuadro 2). Sin embargo, el comportamiento de estas variables está influenciado por la especie, estado de madurez y factores ambientales.

Cuadro 2. pH, sólidos solubles totales, y acidez titulable en frutos de ACK.

Frutos	Características químicas		
	pH	^a SST (%)	^b AcT (%)
<i>Ardisia compressa</i> K.	2.73±0.01 ^c	9.7±1.09ab	2.56±0.03a
<i>Fragaria vesca</i> L.	4.09±0.03a	10.07±0.76ab	0.54±0.03b
<i>Rubus fruticosus</i> L.	3.61±0.08b	9.20±0.39b	0.71±0.03b
<i>Vaccinium myrtillus</i>	3.75±0.08b	13.30±1.38a	0.61±0.08b

^aSólidos Solubles Totales; ^b Acidez Titulable. ^cValores con letras iguales dentro de columna son estadísticamente iguales (Tuckey, $\alpha = 0,05$).

La composición mineral de los frutos es afectada por varios factores como: cultivar, condiciones climáticas y prácticas agronómicas. En esta última categoría, la fórmula de fertilización es una de las más importantes (Roper, 2009). El análisis de minerales de ACK mostró que K y S son los minerales más abundantes, mientras que, otros como Zn y Mn se encontraron en cantidades mínimas (Cuadro 3). Según Pereira *et al.* (2006) el potasio es también el mineral más abundante en uvas.

El contenido de agua en el fruto fue alto (86.9 %), pero similar a los reportados para las frutillas del tipo zarzamora y arándanos (Wu *et al.*, 2006). En frutos, es común valores altos de carbohidratos (9.64 por ciento). En segundo lugar, el contenido de fibra, con valor de 1.62±0.02 % que es comparable con valores reportados para uvas y fresas congeladas (Marlett y Volendorf, 1994). Otros componentes como cenizas y extracto etéreo se presentaron en menor cantidad (Cuadro 3).

Cuadro 3. Contenido de minerales y composición proximal del fruto de ACK.

Minerales	Cantidad	Componentes	Cantidad
^a P	0.3	Agua (%)	86.85±0.49
K	3.28	^b Cenizas (%)	0.58±0.005
Ca	0.41	Extracto etéreo (%)	0.54±0.07
Mg	0.35	Proteína (%)	0.77±0.01
S	2.01	Fibra cruda (%)	1.62±0.02
Fe	0.034	Carbohidratos (%)	9.64
Zn	0.0007		
Mn	0.0024		

^a Contenido de minerales es expresado en % y tejido seco.

^b Composición proximal con base en estado fresco

3.3 Contenido de fenoles solubles totales y antocianinas totales en frutos de ACK

El contenido de fenoles solubles totales (FST) en ACK fue de 826.8±9.7 mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/ 100 g de tejido fresco (TF), que fue mayor que los obtenidos para fresa, zarzamora y arándanos (Figura 2a). De los FST presentes en el fruto de ACK, una proporción elevada (96 %) correspondió a antocianinas, cuyo contenido fue elevado de 795.00±2.33 mg equivalentes de cianidina 3-glucósido (ECG)/100 g de TF (Figura 2b). Por tanto, son las antocianinas los principales fenoles solubles en el fruto de ACK, al igual que lo informado para frutillas (Konic´-Ristic´ *et al.*, 2011).

El contenido de antocianinas encontrado en este fruto concuerda con los valores reportados por Salinas *et al.* (2008). Los datos obtenidos para FST y AT para las frutillas

analizadas y usadas como referencias fueron comparables con los valores informados por otros autores (Wang y Hsin-Shan, 2000; Benvenuti *et al.*, 2004; Yue y Xu, 2008). La zarzamora y el arándano son muy apreciados por los consumidores debido a su alto contenido de polifenoles, sin embargo, el fruto de ACK tuvo 72.5 % más que la zarzamora, y 56.7% más que el arándano.

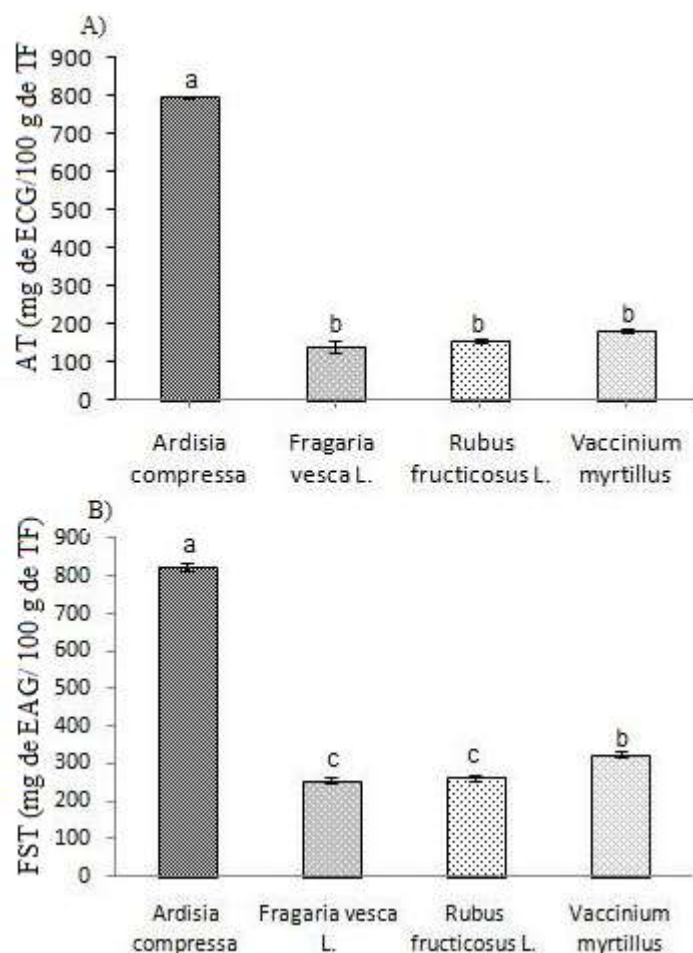


Figura 2. Contenido de fenoles solubles totales (FST), y contenido total de antocianinas (AT) en frutos frescos de chagalapoli, fresa, zarzamora y arándano.

3.4 Análisis de las antocianinas por HPLC

El cromatograma del jugo del fruto de ACK mostró 10 picos, que corresponden a diferentes antocianinas (Fig. 3A). Las antocianinas identificadas fueron: delphinidina 3-glucósido (3), cianidina 3-rutinósido (6), peonidina 3-glucósido (8) y malvidina 3-glucósido (9).

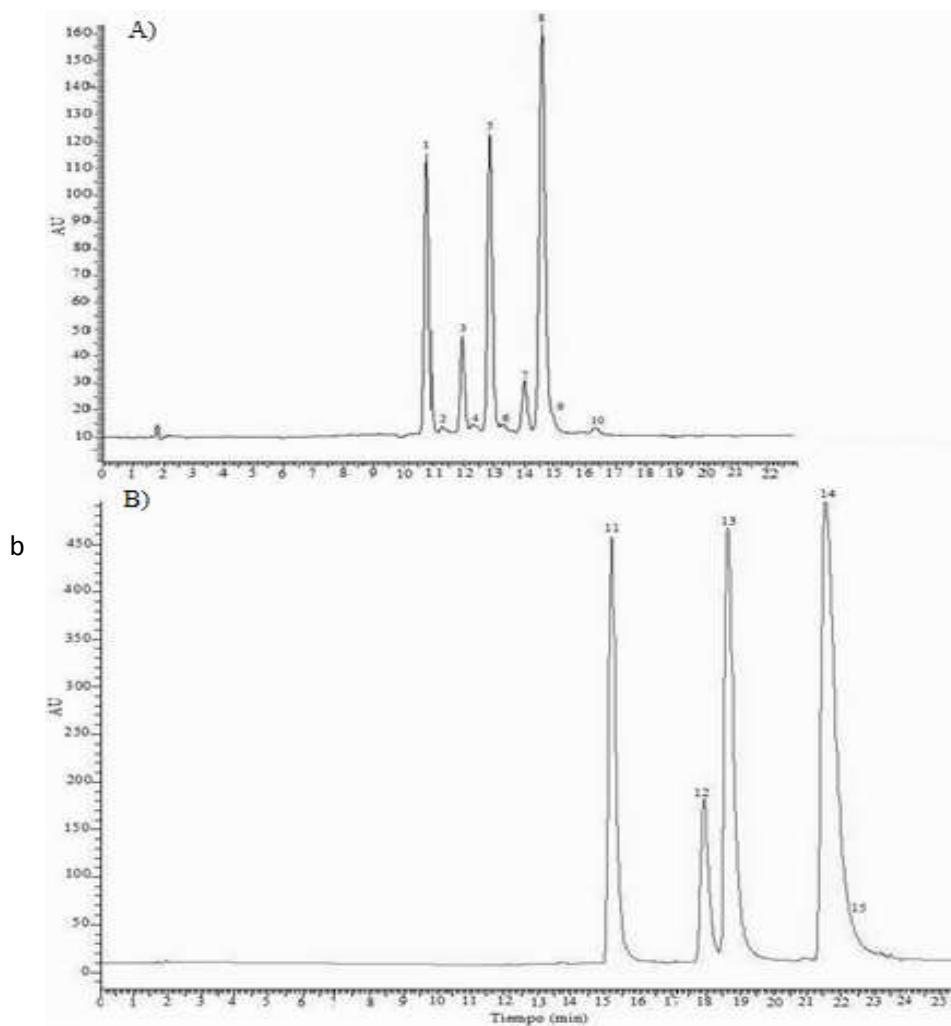


Figura 3. Cromatogramas del jugo del fruto Ardisia compressa K. A). Jugo no hidrolizado; B) Jugo hidrolizado con ácido.

La principal antocianina fue peonidina 3-glucósido, cuyo porcentaje relativo de área fue de 41 % del total. Otra antocianina identificada fue delfinidina 3 glucósido, con un porcentaje relativo de área de 7.4 %. Los picos 1, 2, 4, 5, 7 y 10 no fueron identificados, y en conjunto representaron 60.5% relativo de área, los cuáles hacen una contribución de 60.5% para el total de porcentaje relativo de áreas de los picos resueltos bajo las condiciones de análisis (Cuadro 4).

Cuadro 4. Picos identificados, tiempo de retención y porcentaje relativo de área de los picos del cromatograma del jugo de *Ardisia compressa* K.

Pico	Identificación	^a Tr(min)	^b PAR
1	Desconocido	10.67	22.0±1.6 ^c
2	Desconocido	11.135	0.45±0.1
3	Delfinidina 3-glucósido	11.815	7.4±0.5
4	Desconocido	12.19	0.37±0.08
5	Desconocido	12.745	25.6±1.86
6	Cianidina 3-rutinósido	13.16	0.32±0.1
7	Desconocido	13.85	4.7±0.21
8 y 9	Peonidina 3-glucósido y malvidina 3-glucósido	14.45	41±0.48
10	Desconocido	16.47	0.61±0.08

^a Tiempo de retencion; ^b Porcentaje de area relativa. ^cMedia ± desviacion estándar obtenido del análisis (n=2)

La hidrólisis ácida del jugo permitió detectar la presencia de cuatro agliconas o antocianidinas, que fueron identificadas como: delfinidina (11), cianidina (12) petunidina (13) y peonidina y malvidina (14 y 15). El pico 12 co-eluye con el pico 13 (Fig. 3B). Los porcentajes relativos de área de estas agliconas se muestran en el Cuadro 5. De las antocianidinas presentes en el fruto de ACK, el pico de mayor porcentaje relativo de área fue el integrado por peonidina y malvidina que coeluyen (43.4 %), seguidas de petunidina (26.3 %), delfinidina (20.4 %) y cianidina (8.5 %).

Cuadro 5. Picos identificados, tiempo de retención y porcentaje relativo de área del cromatograma del jugo de de *Ardisia compressa* K. después de ser hidrolizados con ácido.

Pico	Identificación	^a Tr(min)	^b PAR
11	Delfinidina	15.2	20.35±0.38
12	Cianidina	17.95	8.48±0.63
13	Petunidina	18.65	26.29±0.89
14 y 15	Peonidina y malvidina	21.57	43.39±0.10

^a Tiempo de retencion. ^b Porcentaje de area relativa, Media ± desviacion estándar obtenido del análisis (n=2)

Después de la hidrólisis alcalina, se observó que una antocianina era de tipo acilada (pico 1, Figura 5), ya que el porcentaje relativo de área inicialmente era de 22.02% y llegó a ser de 1.53 %, casi desaparecio este pico. Mientras que el pico 8 y 9 se incrementó con un porcentaje de área relativa de 55.29%.

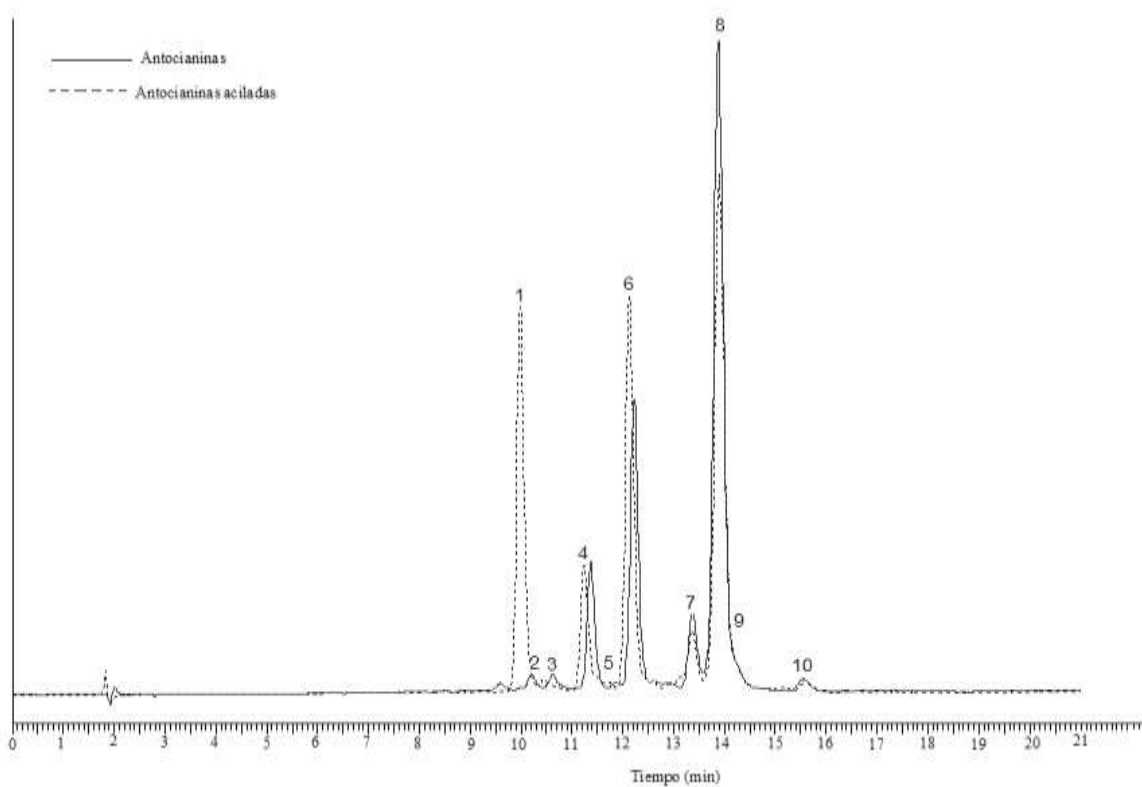


Figura 4. Cromatogramas de antocianinas del jugo de ACK sin hidrólisis (línea punteada) y con hidrólisis alcalina (línea continua).

3.5 Ácidos fenólicos

En el fruto de ACK se encontraron diferentes ácidos libres, glucosilados y esterificados, de los cuales se pudieron cuantificar sólo algunos (Cuadro 7). Se encontraron tres ácidos fenólicos libres: ácido gálico, ácido p-hidroxibenzoico y protocatecuico, de los cuáles los dos últimos se encontraron en mayor concentración con 14.34 mg kg^{-1} de TF y 13.14 mg kg^{-1} de TF respectivamente. Sólo dos ácidos se cuantificaron dentro de los glucosilados. Finalmente dentro del grupo de los

esterificados, el ácido vanílico se encontró en mayor concentración, seguido del p-hidroxibenzoico y en menor concentración el ácido protocatecuico.

Li *et al.* (2009) cuantificaron ácidos fenólicos en fresa ($>100 \text{ mg kg}^{-1}$), encontrando ácido trans-cinámico (566 mg kg^{-1}), p-cumárico (213 mg kg^{-1}), gálico (212 mg kg^{-1}) y p-hidroxibenzoico (124 mg kg^{-1}). Ácido gálico (1129 mg kg^{-1}) y protocatecuico (102 mg kg^{-1}) en frambuesa, y en arándanos silvestres encontraron ácido cafeico (1473 mg kg^{-1}), sirínico (286 mg kg^{-1}) y gálico (190 mg kg^{-1}).

Cuadro 6. Cuantificación de ácidos fenólicos identificados en el fruto de ACK.

Ácido	Libres	Glucosilados	Esterificados	ácidos fenólicos $\mu\text{g g}^{-1}$
Gálico	7.95 $\pm$ 1.6			7.7
Protocatecuico	13.5 $\pm$	5 $\pm$ 0.4	5.9 $\pm$ 0.1	24.4
p-hidroxibenzoico	14.4 $\pm$ 1.3	15.9 $\pm$ 3.3	17.0 $\pm$ 2.6	47.3
Vanílico			20.3 $\pm$ 0.5	20.4
Ácidos fenólicos totales	509.7 $\pm$ 27	142.5 $\pm$ 9	237.9 $\pm$ 11	
Media $\pm$ desviación estándar obtenido del análisis (n=2)				

3.6 Actividad antioxidante de los extractos metanólicos

El comportamiento de la actividad antioxidante de las frutillas se muestran en el Cuadro 6. Los datos obtenidos por el método de ABTS indican que ACK es la que presenta mayor concentración con 50.57 μM de Trolox Equivalente (TE)/ g Tejido

Fresco (TF), el fruto que menos concentración presentó fue el arándano (21.82 μM de TE/ g TF).

Con el método de ABTS también la que presentó mayor concentración fue ACK y las que menos presentaron fueron el arándano; pero en zarzamora y fresa presentó una posición diferente comparada con el ABTS.

Con respecto al porcentaje de inhibición, Dvaranauskait *et al.* (2006), reportan valores 92.6 ± 0.66 - 52.9 ± 2.60 con el método de DPPH y con ABTS 52.5 ± 1.44 - 97.8 ± 0.50 , esto en frambuesa. Los valores obtenidos en las frutillas están por debajo de estos valores.

Cuando se calculó la cantidad de fenoles necesaria para lograr una reducción del 50% del DPPH (IC_{50}), el valor obtenido para ACK fue de $32.09 \pm 1.7 \mu\text{g mL}^{-1}$, $21.57 \pm 1 \mu\text{g mL}^{-1}$ para zarzamora, 23.23 ± 1 . para fresa y 40.29 ± 1.8 para arándanos. ACK presenta un valor superior numericamente al de zarzamora y fresa. Si se considera que un menor valor de IC_{50} significa mayor capacidad antioxidante, entonces el orden sería zarzamora > fresa > chagalapoli > arándano.

Para el porcentaje de inhibición Li *et al.*, 2009 reporta un porcentaje de DPPH reducido en fresa de $40.33 \pm 1\%$, para frambuesa fue de $51.23\% \pm 0.4$ y en arándanos silvestres fue $34.13 \pm 1.20\%$. Comparando dichos valores con los obtenidos en este estudio los valores de fresa y arándanos están por debajo de lo reportado.

Cuadro 7. Actividad antioxidante de los extractos metanólicos de las frutillas por el método de ABTS y DPPH.

Nombre científico	DPPH		ABTS	
	Inhibición (%)	$\mu\text{M de TE g}^{-1}$ de TF	Inhibición (%)	$\mu\text{M de Trolox g}^{-1}$ de ^a TF
<i>Ardisia compressa</i> K.	55.6±0.3	50.6±0.34	67.7±4.3	43.2±3.3
<i>Fragaria vesca</i> L.	29.2±0.01	22.9±0.01	30.2±0.4	14.3±0.3
<i>Rubus fruticosus</i> L.	31.1±1.3	24.9±1.3	28.6±0.5	13.1±0.2
<i>Vaccinium myrtillus</i>	28.1±1	21.8±1	24.4±3	9.9±1.2

^aTejido fresco. ^cMedia ± desviación estándar obtenido del análisis (n=2)

Una explicación para estos resultados es que la habilidad de los polifenoles para reducir el radical estable DPPH no es el mismo. Los flavonoides que presentan una alta actividad antioxidante son la quercetina y la cianidina (Rice-Evans *et al.*, 1996). En el jugo de ACK no se observó la presencia de la quercetina. La presencia relativa de la cianidina en las antocianidinas de este fruto fue bajo (5.71%), y cianidina es considerada como uno de los polifenoles antioxidantes más eficientes (Kähkönen, y Heihonen, 2003), y que está presente en mayor proporción en las zarzamoras (Patras, 2010).

3.7 Proantocianidinas

El contenido de proantocianidinas en el fruto de ACK fue de $14.6 \pm 3.2 \text{ mg (100 g)}^{-1}$ de tejido fresco. Según Hervert-Hernández *et al.*, 2010, mencionan que en fracciones comestibles de plantas encontraron $28.91 \pm 0.08 \text{ g/100 g}$ de tejido seco. Begoña *et al.* (2010) reportan valores en fresa de 53.9 a $163.2 \text{ mg (100 g)}^{-1}$ de proantocianidinas

totales en tejido fresco. Las proantocianindinas son más abundantes en el epicarpio y especialmente en semillas de berries (Yue y Xu, 2008).

3.8 Efecto del proceso de elaboración de la mermelada de ACK sobre sus compuestos fenólicos

Durante el procesamiento de la mermelada se presentó una pérdida del 41.02% de fenoles totales (487.3 mg de AGE/100 g de mermelada), y en antocianinas presentó una pérdida del 56.54% (345.96 mg de CGE/100 g de mermelada) como se muestra en la Figura 5.

Dependiendo de las diferentes formas en las cuales los frutos pueden ser transformados con el fin de aumentar la vida de anaquel, en la elaboración de la mermelada pueden presentarse pérdidas que van desde el 10% al 80 % (García-Viguera, y Zafrilla, 2001), dependiendo de la temperatura y tiempo de procesamiento (Patras *et al.*, 2010).

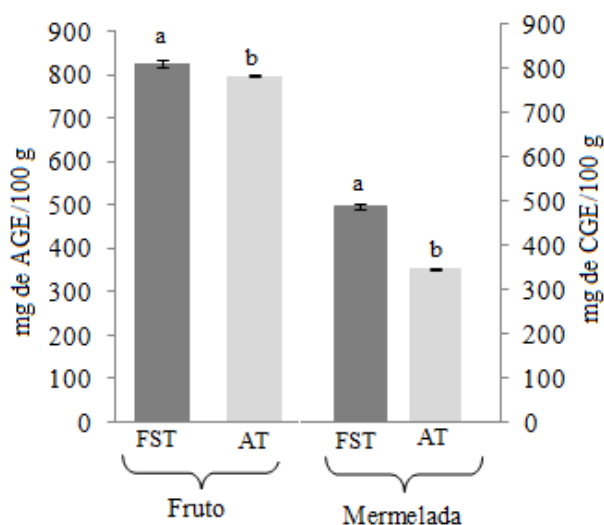


Figura 5. Contenido de fenoles solubles totales y antocianinas totales en fruto de ACK y mermelada. Las letras indican que son estadísticamente diferentes (Tuckey, $\alpha = 0,05$).

4. CONCLUSIONES

El fruto ACK presentó una composición química proximal similar a las frutillas como fresa, zarzamora y arándanos; con alto contenido de fenoles solubles (826 mg EAG g⁻¹ de TF), de los cuales el 96% corresponde a antocianinas. La principal antocianina en el fruto de ACK es peonidina 3-glucósido.

De los ácidos fenólicos que se pudieron cuantificar, el ácido p-hidroxibenzoico es el que se encuentra en mayor concentración.

El extracto metanólico del fruto ACK presentó mayor actividad antioxidante comparada con el arándano, presentó un IC₅₀ de 32.09 µM/ mL.

Durante el proceso térmico en la elaboración de la mermelada se presentó una pérdida de antocianinas de alrededor del 56% y en menor proporción el 41% de fenoles solubles totales.

5. LITERATURA CITADA

- AOAC. 1998. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16 th edition. Cap: 25-45. Vol. 2. Part. 1. 920.152, 934.65, 932.12, 940.26, 965.30, 966.16, 929.07, 931.10, 970.39, 942.15, 962.09E Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- Bakan, B., Bily, A. C., Melcion, D., Cahagnier, B., Regnault-Roger, C., Philogene, B. J. R. and Richard-Molard, D. 2003. Possible role of plant phenolics in the production of trichothecenes by *Fusarium graminearum* strains on different fractions of maize kernels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 51: 2826-2831.
- Begoña Buendia, Maria I. Gil, Juan A. Tudela, Anne L. Gady, Juan J. Medina, Carmen Soria, José M. López, And Francisco A. Tomás-Barberán. 2010. HPLC-MS Analysis of Proanthocyanidin Oligomers and Other Phenolics in 15 Strawberry Cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58, 3916–3926. DOI:10.1021/jf9030597
- Benvenuti S., Pellati F., Melegari M., y Bertelli D. 2004. Polyphenols, Anthocyanins, Ascorbic Acid, and Radical Scavenging Activity of *Rubus*, *Ribes*, and *Aronia*. *Journal Of Food Science*. Vol. 69, Nr. 3, FCT164- FCT169.
- Chandra, S., & González de Mejía, E. (2004). Polyphenolic compounds, antioxidant capacity, and quinone reductase activity of an aqueous extract of *Ardisia compressa* in comparison to mate (*Ilex paraguariensis*) and green (*Camellia sinensis*) teas. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 11, 3583-3589.
- Dvaranauskait A., Venskutonis R. y Labokas J. 2006. Radical scavenging activity of raspberry (*rubus idaeus* L.) Fruit extracts. *Acta Alimentaria*, Vol. 35 (1), pp. 73–83 (2006). DOI: 10.1556/AAlim.35.2006.1.9.
- Einbond, S. L., Reynertson, A. K., Xiao-Dong, L., Basile, J. M., & Kennelly, J. E. (2004). Anthocyanin antioxidants from edible fruits. *Food Chemistry*, 84, 23–28.
- Fossen, T., Slimestad, R., & Andersen, M. O. (2001). Anthocyanins from maize (*Zea mays*) and reed canarygrass (*Phalaris arundinacea*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49, 2318-2321.

- García-Viguera, C., & Zafrilla, P. (2001). Changes in anthocyanins during food processing: influence on color. ACS Symposium Series 775 (Chemistry and Physiology of Selected Food Colorants), American Chemical Society, p. 56e65.
- Hervet-Hernández Deisy, García Olga P. , Rosado Jorge L. , Goñi Isabel . 2010. The contribution of fruits and vegetables to dietary intake of polyphenols and antioxidant capacity in a Mexican rural diet: Importance of fruit and vegetable variety. Food Research International, doi:10.1016/j.foodres.2010.09.021.
- Káhkönen, P. M., & Heihonen, M. (2003). Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 51, 628-633.
- Kim, D. O., & Padilla-Zakour, O. I. (2004). Jam Processing Effect on Phenolics and Antioxidant Capacity in Anthocyanin-rich Fruits: Cherry, Plum, and Raspberry. Journal of Food Science, 9, S395-S400.
- Kobayashi, H., & González de Mejía, E. (2004). The genus *Ardisia*: a novel source of health-promoting compounds and phytopharmaceuticals. Journal of Ethnopharmacology, 96, 347–354.
- Konic´-Ristic´ Aleksandra ´, Šavikin Katarina, Zdunic´Gordana, Jankovic´ Teodora, Juranic Zorica , Menkovic´Nebojša and Stankovic Ivan. 2011. Biological activity and chemical composition of different berry juices. Food Chemistry. 125, 1412–1417.
- Li Wende, Hydamaka Arnold W., Lowry Lynda, Beta Trust. 2009. Comparison of antioxidant capacity and phenolic compounds of berries, chokecherry and seabuckthorn. Cent. Eur. J. Biol. • 4(4) • 2009 • 499–506. DOI: 10.2478/s11535-009-0041-1.
- Makkar, H. P. S. (2002). Quantification of Tannins in Tree and Shrub Foliage. Kluwer Academic Publishers, Viena, Austria. pp: 49-99.
- Marlett, A. J., & Vollendorf, W. N. (1994). Dietary fiber content and composition of different forms of fruits. Food Chemistry 51, 39-44.
- Mcguire, R. G. (1992). Reporting objective color measurements. Horticultural Science, 27, 1254-1255.
- Newell, A. M. B., Yousef, G. G., Lila, M. A., Ramírez-Mares, M. V., & González de Mejía, E. (2010). Comparative in vitro bioactivities of tea extracts from six species of *Ardisia* and their effect on growth inhibition of HepG2 cells. Journal of Ethnopharmacology, 130, 536-544.

- Pascual-Teresa, S.; Santos-Buelga, C., & Rivas-Gonzalo. (2002). LC–MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 1003-1006.
- Patras, A., Brunton, P. N., O'Donnell, & Tiwari, B. K. (2010). Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Food Science and Technology* 21, 3-11.
- Pereira, G. E., Gaudillere, J. P., Pieri, P., Hilbert, G., Maucourt, M., Deborde, C., Moing, A. & Rolin, D. (2006). Microclimate Influence on Mineral and Metabolic Profiles of Grape Berries. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54, 6765-6775.
- Prior Ronald L, Ellen Fan, Hongping Ji, Amy Howell, Christian Nio, Mark J Payne y Jess Reed. 2010. Multi-laboratory validation of a standard method for quantifying proanthocyanidins in cranberry powders. *J Sci Food Agric* 2010; 90: 1473–1478.
- Re Roberta, Nicoletta Pellegrini, Anna Proteggente, Ananth Pannala, Min Yang y Catherine Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 26, Nos. 9/10, pp. 1231–1237.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1995). Structure Antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine*, 7, 933-956.
- Roper, T. R. (2009). Mineral nutrition of cranberry: what we know and what we thought we knew. *Acta Horticulturae* 810, pp 613-626.
- Salinas-Moreno, Y., Hernández-García, A., & Rubio Hernández, D. (2008). Anthocyanins in *Ardisia compressa* fruits and characterization. 5th International Congress on pigments in Food. Food chemistry, University of Helsinki, Finlandia.
- Salinas-Moreno, Y., Salas-Sánchez, G., Hernández-Rubio, D., & Ramos-Lobato, N. (2005). Characterization of anthocyanin extracts from maize kernels. *Journal of Chromatographic Science*, 43, 445-500.
- Soler-Rivas, C., Espin, J. C., & Wichers, H. J. (2000). An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. *Phytochemical Analitical*, 11, 330-338.
- Wang, S. Y., & Hsin-Shan, L. (2000). Antioxidant Activity in Fruits and Leaves of Blackberry, Raspberry, and Strawberry Varies with Cultivar and Developmental Stage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, 140-146.

- Wallace Taylor C. y Giusti M. Monica. 2010. Evaluation of Parameters that Affect the 4-Dimethylaminocinnamaldehyde Assay for Flavanols and Proanthocyanidins. *Journal of Food Science*. Vol. 75, Nr. 7, C619-C625.
- Wu, X., Beecher, R. G., Holden, M. J., Haytowitz, B. D., Gebhardt, E.S., & Prior L. R. (2006). Concentrations of Anthocyanins in Common Foods in the United States and Estimation of Normal Consumption. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54, 4069-4075.
- Williams, L. O. (1966). Chief Curator, Botany, Chicago Natural History Museum. *Myrsinaceae* by Cyrus Long Lundel worth. *Fieldiana: Botany*. 1 and 2 published by Chicago Natural History, (Chapter 8).
- Yue, X., & Xu, Z. (2008). Changes of anthocyanins, anthocyanidins, and antioxidant activity in Bilberry extract during dry heating. *Journal of Food Science*, 6, C494-C499.

CAPÍTULO 2. ESTABILIDAD DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS EN MERMELADA DEL FRUTO CHAGALAPOLI (*Ardisia compressa* K.)

STABILITY OF PHENOLICS COMPOUNDS IN JAM OF CHAGALAPOLI FRUITS (*Ardisia compressa* K.)

Joaquín-Cruz Elvia¹, Y. Salinas-Moreno^{3*}, Ma. T. Colinas-León² y A. Hernández Montes¹

RESÚMEN

El fruto de *Ardisia compressa* K (ACK) es una drupa de tamaño pequeño con una gran cantidad de antocianinas. Se evaluó la estabilidad de los fenoles solubles totales (FST), antocianinas totales (AT) y actividad antioxidante (AA) en mermeladas elaboradas con frutos de ACK almacenadas durante tres meses. Se probaron dos métodos de elaboración de mermelada (M1 y M2) y se monitorearon FST (Folin-ciocalteu), AT (espectrofotometría) y AA (radical estable DPPH). El perfil de antocianinas de la mermelada se determinó por HPLC. Los resultados indicaron que el método de elaboración de la mermelada afectó la estabilidad de AT y FST. Al final del almacenamiento la mermelada del método 1 (M1) presentó una pérdida de 47.7% de AT y 27% de FST, mientras que en la del método dos (M2) fueron de 45.3% de AT y 21 % de FST. El procesamiento no afectó el perfil de antocianinas, ya que en la mermelada se encontraron los mismos 10 picos que en el fruto, pero si la proporción de cada uno de estos. La AA de las mermeladas se redujo a una tasa menor de la que se presentó en AT y FST.

Palabras clave: *Ardisia compressa*, mermelada, HPLC, ácidos fenólicos

ABSTRACT

The fruits of *Ardisia compressa* K (ACK) is a small drupe with a large amount of anthocyanins. Total soluble phenols (TPC) stability, total anthocyanins (TAC) and antioxidant activity (AA) were evaluated in jams made with ACK fruit stored for three months. Two jams manufacture methods were tested (M1 and M2) the response variables were TPC (Folin-Ciocalteu), TAC (spectrophotometry) and AA (stable radical DPPH). The anthocyanin profile of the jam was determined by HPLC. The results indicated that the method of making jam making affected the stability of TAC and TPC. At the end of the jam storage the method 1 (M1) showed and TA and TPC losses of 47.7% and 27% respectively, while for the method two (M2) the losses were 45.3% and 21% respectively. Jam manufacture did not affect the anthocyanin profiles, because the same 10 peaks found in the jam were found in the fruit, but in different proportions. The AA of the jams was reduced to a lower rate than the one presented in TAC and TPC.

Keywords: *Ardisia compressa* K., jam, HPLC, phenolics acids

1. INTRODUCCIÓN

Existen diferentes métodos de procesamiento de alimentos, cuyo objetivo es ampliar el tiempo de conservación y aprovechar la oferta en el mercado de algunos frutos perecederos. Uno de los más usados es el tratamiento térmico, que si bien es simple, se reconoce como uno de los más agresivos para los compuestos bioactivos, principalmente las antocianinas, que son degradadas de manera importante al ser sometidos los frutos a tales procesos de conservación (Hager *et al.*, 2008; Brownmiller *et al.*, 2008).

En la última década, las industrias alimentarias y de la medicina preventiva han mostrado interés en encontrar "los antioxidantes naturales" a partir de material vegetal (Benvenuti *et al.*, 2004), que permitan la conservación misma del alimento y provean de estos compuestos a los consumidores. Dicho interés se sustenta en el conocimiento sobre los beneficios a la salud que acarrea el consumo cotidiano de frutas y verduras (Tosun *et al.*, 2009), que contienen grandes cantidades de fenoles a los que se les atribuyen actividades biológicas como antioxidantes (Riu, 2003), antimutagénicas (Ames y Gold, 1991) y anticancerígenas (Knekt *et al.*, 1997).

Ardisia compressa K., es un arbusto que alcanza una altura de hasta 3 metros, produce frutos de color rojo púrpura con una pequeña semilla, clasificado botánicamente como drupa. Dicho fruto presenta altas concentraciones de antocianinas (Hernández-García, 2007), sin embargo su producción es estacional y dadas las características del fruto, es altamente perecedero. Una forma de conservarlo sería mediante su procesamiento para la obtención de diferentes productos, como mermelada.

Se ha reportado que el tratamiento térmico y almacenamiento de productos ocasionan pérdidas significativas de antocianinas en jugos de arándanos (Srivastava *et al.*, 2007; Hager *et al.*, 2008), en puré de frambuesa (Ochoa *et al.*, 1999; Hager *et al.*, 2008) y mermelada de fresa. La tasa de pérdida va a depender de factores tales como: características del empaque, condiciones del almacenamiento y las características físicas y químicas del producto (Trořst *et al.*, 2008).

Aparte de las frutillas y uvas, son pocos los frutos que se caracterizan por un contenido elevado de antocianinas, por lo que es importante estudiar nuevas alternativas como es el caso de chagalapolli, fruto de *Ardisia compressa* K. (ACK), por lo que los objetivos de este estudio fueron determinar la estabilidad de los fenoles solubles, antocianinas totales y actividad antioxidante en las mermeladas a partir de chagalapolli, durante un período de almacenamiento de tres meses.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material vegetal

Frutos de *Ardisia compressa* Kush (ACK) en madurez comestible se recolectaron manualmente en Mayo de 2010 en la comunidad de San Andrés Tuxtla, Veracruz. Los frutos se cosecharon manualmente, obteniendo de cada árbol, alrededor de 100 g. La cantidad de fruta que se obtuvo y trasladó al sitio de análisis fue de 12 kg aproximadamente.

2.2 Elaboración de la mermelada

Los frutos fueron limpiados de impurezas como hojas y ramillas, después se lavaron; posteriormente 7 kg de fruta fueron procesados en una despulpadora marca JERSA, para eliminar el hueso. Se obtuvieron aproximadamente 2.5 kg de pulpa en la que se encontraba también la cáscara del fruto. La mermelada se elaboró de acuerdo con la metodología descrita por Kim y Padilla-Zakour (2004) con algunas modificaciones. El procedimiento en el que se utilizó 50 % de fruta, 48 % de azúcar, 2 % pectina and 0.1 % benzoato de sodio como conservador se denominó Método 1 (M1). La obtenida con 50 % fruta, 49.5 % azúcar, y 0.5 % de goma guar, sin adición de conservador se denominó Método de elaboración 2 (M2).

Para ambos métodos la pulpa se colocó en una olla y se llevó a ebullición (102-104 °C) por 10 min para evaporar el agua, después se agregó la mitad del azúcar y se mantuvo bajo estas condiciones, con agitación constante por 15 min; después se agregó

el resto del azúcar y la pectina para el M1. En el caso del método 2 se agregó la goma guar (disuelta en agua destilada) en lugar de la pectina y se mantuvo a ebullición por 10 min hasta obtener de 60-68 °Bx. Para el Método 1 se le agregó benzoato de sodio como conservador antes de ser envasada la mermelada en los frascos. En ninguno de los dos métodos de elaboración de mermelada hubo necesidad de agregar ácido cítrico para bajar el pH, ya que una característica de este fruto es su pH bajo (3-3.2), condición necesaria para una adecuada gelificación.

La mermelada se envasó en frascos de vidrio de 130 mL previamente esterilizados, y depositando en cada frasco aproximadamente 100 g de muestra. Se tuvieron 16 frascos por cada método, que se colocaron sobre una mesa en un cuarto a temperatura ambiente. Una vez que los frascos de mermelada se enfriaron, se colocaron en un estante metálico, simulando la forma en que este producto se expone a la venta en tiendas y supermercados.

2.3 Variables físicas estudiadas en la mermelada

Las variables de estudio se midieron cada semana para el primer mes, para el segundo mes el análisis fue cada 15 días y durante el tercer mes únicamente se realizó al inicio y al final.

2.3.1 Color

Se colocó una muestra de 40 g de mermelada en cajas Petri, se homogeneizó la superficie con ayuda de una espátula y se midió el color con el colorímetro Hunter Lab MiniScan XE Plus (Modelo 45/O-L), usando la escala CIE Lab. Obteniendo los parámetros de Luminosidad, “ a^* ” y “ b^* ” que se usaron para calcular el ΔE . Teniendo como control los valores de los parámetros obtenidos en el tiempo cero (inicio).

$$\Delta E = \sqrt{(L_t - L_0)^2 + (a_t - a_0)^2 + (b_t - b_0)^2}.$$

2.3.2 Sólidos Solubles Totales (SST)

Para determinar los sólidos solubles totales (°Bx) en la mermelada se siguió la metodología de la AOAC (1998), con la ayuda de un refractómetro con escala de 0 a 93 % (PAL-3, Pocket refractometer ATAGO, Tokyo, Japan).

2.3.3 pH

Se midió con un potenciómetro (MI 255 Hanna Instruments, Woonsocket, RI, USA), según la metodología descrita por la AOAC (1998).

2.3.4 Actividad de agua (aw)

La determinación de la actividad de agua fue analizado con un medidor de a_w con una sensibilidad de ± 0.005 (AQUALAB Series 3, Decagon Devices, Inc. 2365 NE Hopkins Court, Pullman WA 99163).

2.3.5. Humedad

Se determinó por el método de la AOAC (1998).

2.4 Variables químicas evaluadas en la mermelada

2.4.1 Acidez titulable (AT)

La acidez titulable se evaluó por el método de titulación con hidróxido de sodio, propuesto por la AOAC, (1998). Usando el pH de vire de la fenolftaleína (8.3-8.6) como punto final de la titulación. La acidez se expresó como porcentaje de ácido tartárico que es el ácido de mayor presencia en este fruto y se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ _ácido _Tartárico} = \frac{mL_de_NaOH * N * 0.075 * FD}{mL_de_muestra} * 100$$

Dónde:

mL de NaOH: el gasto obtenido en la titulación

N: Normalidad del NaOH

0.075: peso en miliequivalentes del ácido tartárico

FD: factor de dilución de la muestra

2.4.2 Compuestos fenólicos

Los fenoles (antocianinas y fenoles solubles totales) de las mermeladas fueron extraídos a partir de 1 g de muestra que se colocó en un matraz Erlenmeyer con 20 mL de metanol acidificado al 1 % con ácido trifluoroacético (TFA). Se mezcló agitando manualmente, enseguida las muestras fueron sonicadas (Brason model 2510) por 30 min, para luego colocarlas por 2 horas en un agitador horizontal a temperatura ambiente ($\pm 24\text{ }^{\circ}\text{C}$). Las muestras se centrifugaron a 1431xg por 15 min en una centrífuga (Hettich zentrifugen, Mod. Universal 32) para facilitar la separación de sobrenadante y residuo.

El sobrenadante fue recuperado y el residuo sometido a dos extracciones más, usando como solvente de extracción metanol, ácido acético, agua (10:1:9 v/v/v), bajo los mismos procedimientos que en la primera extracción. Los sobrenadantes de las tres extracciones se juntaron y aforaron con una mezcla de metanol: ácido acético: agua a un volumen conocido (100 mL), luego se filtró con papel Whatman No. 1. Este extracto se usó para cuantificar fenoles solubles totales y antocianinas totales

2.4.2.2 Fenoles solubles totales

Se realizó por el método colorimétrico de Folin-ciocalteu (F-C) como lo describe Makkar (2002). Se preparó una curva estándar de ácido gálico para expresar la concentración en función de este ácido.

2.4.3 Antocianinas totales (CTA)

La absorbancia del extracto fenólico fue leída a 520 nm en un espectrofotómetro Perkin-Elmer. El contenido de antocianinas totales se expresó en términos de cianidina 3-glucósido (CG), con la que se elaboró una curva estándar (Salinas-Moreno *et al.*, 2005).

2.4.4 Análisis de antocianinas en HPLC

La extracción de antocianinas para el análisis en HPLC se realizó pesando 1g de mermelada que se colocó en un matraz Erlenmeyer y se agregaron 20 mL de metanol acidificado al 1% con ácido trifluoroacético (TFA). Se mezcló agitando manualmente, enseguida se sonicó la mezcla por 30 min para luego poner en agitación por 2 horas en un agitador horizontal. La muestra se centrifugó a 1431x g por 15 min en una centrifuga (Hettich zentrifugen, Mod. Universal 32), se separó el sobrenadante del residuo y se filtró usando papel Whatman N°1.

Se utilizó un equipo Perkin Elmer series 200, integrado por un detector UV-DAD, una bomba cuaternaria, un horno y un auto-muestreador, todos ellos controlados por una PC y el programa de computación TotalChrom. Se utilizó una columna analítica ODS-Hypersil (200 x 4.6 mm) con tamaño de particular de 5 µm en fase reversa. El análisis se llevó a cabo usando dos fases móviles: HCOOH/H₂O (1:9) (A) y HCOOH/H₂O/MeOH (1:4:5) (B), bajo un sistema de gradientes: gradiente linear de 10% B a 100% B por 17 min, elución isocrática por los siguientes 4 min (100% B), seguido de un gradiente linear de 100% B a 10% B por 1 min (Fossen *et al.*, 2001). Los solventes usados fueron grado HPLC, y previamente filtrados con una membrana de 0.2 µm de nylon (Millipore, Bedford, MA). Las muestras de antocianinas se filtraron con un acrodisco de 0.45 µm (Millipore, Bedford, MA) previo a ser inyectadas al equipo. El volumen de inyección

fue de 10 μL ; la velocidad de flujo de 1.2 mL min^{-1} , y el tiempo de corrida de 22 minutos. Las antocianinas fueron detectadas a 530 nm e identificadas usando estándares comerciales de: cianidina 3-glucósido, pelargonidina 3-glucósido, peonidina 3-glucósido, malvidina 3-glucósido (Polyphenols, NW) y cianidina 3-rutinosido (Extrasynthese); la delfinidina 3-glucósido se aisló de la cáscara de la berenjena (*Solanum melongena*).

Como los métodos de elaboración de mermelada utilizados fueron iguales en términos de las variables de proceso, el monitoreo de las antocianinas únicamente se realizó en la mermelada elaborada bajo el Método 1, en la que se utilizó el benzoato de sodio como conservador.

2.5 Actividad antioxidante

DPPH

Se tomaron 200 μL del extracto metanólico (EM) y se mezclaron con 2.8 mL de DPPH 60 μM (1,1 difenil-2-picril-hidrazil) para obtener un volumen de 3 mL. La absorbancia inicial fue la obtenida al mezclar 2.8 mL de DPPH 60 μM y 200 μL de MeOH al 80 %, en un espectrofotómetro (Perkin-Elmer, Lambda 25) a 515 nm. Los cambios en la absorbancia después de mezclar la alícuota del extracto con el DPPH fueron medidos en intervalos de 1, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutos. Se calculó el porcentaje de DPPH reducido mediante la fórmula propuesta por Soler-Rivas *et al.* (2000). Se utilizó Trolox como estándar y los resultados del ensayo se expresaron en función de Trolox equivalentes.

ABTS

Se realizó con base a la metodología descrita por Re *et al.* (1999). Se tomaron 200 μ L del extracto metanólico (EM) y se mezclaron con 2.8 mL de ABTS, para obtener un volumen de 3 mL. La absorbancia inicial fue la obtenida al mezclar 2.8 mL de ABTS 200 μ L de MeOH al 80 %, en un espectrofotómetro (Perkin-Elmer, Lambda 25) a 515 nm. Los cambios en la absorbancia después de mezclar la alícuota del extracto con el ABTS fueron medidos en intervalos de 1, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutos. Se elaboró una curva estándar de Trolox (6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilchromane-2-carboxílico) solubilizando el reactivo en MeOH al 80 %. El intervalo de concentraciones para la curva fue de 50 a 400 ppm, y el color de la reacción entre alícuotas de cada punto de curva y el reactivo ABTS se monitoreo a 734 nm. El porcentaje de inhibición se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \left(1 - \frac{At}{Ar}\right) \times 100$$

Donde At es la absorbancia de la muestra y Ar es la absorbancia de la referencia. Se graficó concentración vs % de inhibición y se realizó una regresión lineal para obtener la ecuación y expresar el % de inhibición del extracto en función de Trolox equivalentes.

2.6 Análisis estadístico de datos

Los datos de la caracterización de la mermelada fueron analizados bajo un diseño completamente al azar por duplicado. Los tratamientos de preparación de la mermelada fueron comparados usando un análisis varianza y comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$) con el paquete estadístico SAS (SAS Institute, 2002).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Variables físicas

3.1.1 Color

En el Cuadro1, se muestra los atributos de color de la mermelada de frutos de ACK monitoreado durante 3 meses. En la mermelada elaborada bajo el método 1(M1) se presentó una luminosidad ligeramente más baja que en la del método dos (M2) esto se puede atribuir a que a la goma guar, lo cual va atrapar agua y por lo tanto se reflejada.

Cuadro 1. Valores de los parámetros de color en mermelada de ACK almacenada a temperatura ambiente, por mes.

Tiempo	Muestra	L*	a*	b*
Tiempo 0	M1	20.24b	0.42b	-0.53b
	M2	21.51a	1.29 ^a	-0.35a
Mes 1	M1	17.54b	0.85 ^a	-0.30a
	M2	20.70a	0.44b	-0.35a
Mes 2	M1	16.42b	1.10b	-0.77b
	M2	18.28a	1.37 ^a	-0.45a
Mes 3	M1	15.43b	1.53b	-0.52b
	M2	17.55a	1.82 ^a	-0.18a

Valores con letras iguales dentro de columna son estadísticamente iguales (Tuckey, $\alpha = 0,05$).

Los cambios de color de las mermeladas se determinaron mediante el ΔE , que considera los tres parámetros L, “a*” y “b*”, y permite tener claridad del comportamiento de la variable cuando los parámetros por separado no presentan tendencias. Se apreció que esta variable cambió poco con respecto al tiempo, lo que significa que la mermelada se oscureció ligeramente durante el almacenamiento. La estabilidad de esta variable posiblemente se deba a que con el tratamiento térmico se destruye la enzima polifenoloxidas (PPO) que es la responsable del oscurecimiento enzimático (Skrede et al., 2000) (Figura 2). Patras, et al. (2011), proponen una escala de clasificación para la Diferencia Total de Color (DTC) en mermelada de fresa; consideran como muy distintas las muestras cuando se el valor de DTC > 3 ; distintas cuando $1.5 < DTC < 3$; y diferencia pequeña cuando $DTC < 1.5$. De acuerdo con esta clasificación, la mermelada del M1 al final del periodo de almacenamiento se considera muy distinta en color al la recién elaborada. En tanto la del M2, se considera sólo como distinta (Figura 1).

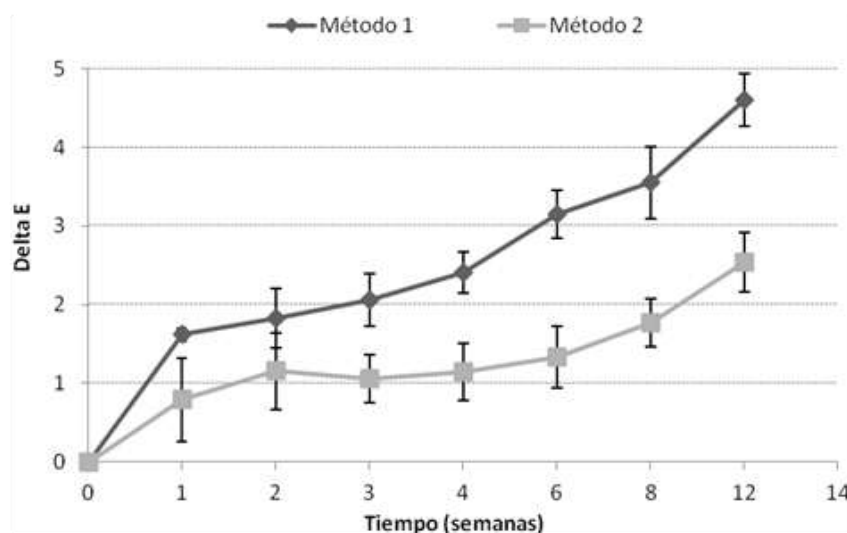


Figura 1. Comportamiento de la variable Delta E (ΔE) en las mermeladas de chagalapoli durante el almacenamiento.

3.1.2 Variables de pH, SST y a_w

La comparación de medias de las variables pH, a_w , SST al inicio y final del periodo de almacenamiento de las mermeladas se muestran en el Cuadro 1. Para el tiempo 0 las variables estadísticamente diferentes entre las mermeladas obtenidas bajo los dos métodos de elaboración fueron a_w y SST. La mermelada elaborada bajo el Método1 (M1) mostró un valor de a_w mayor que la del M2 debido a que a la del M2 se le agregó goma guar, que es un polisacárido que produce una viscosidad mayor que otras gomas naturales comerciales (Fennema, 2000). Los valores de pH obtenidos en las mermeladas fueron similares a los informados por Kim y Padilla-ZAakour (2004) y se ubicaron entre 3.20 y 3.28. Este pH es suficiente para que se efectúe una adecuada gelificación.

Después de tres meses de almacenamiento, las variables consideradas se modificaron muy poco, de manera que las diferencias observadas al tiempo 0 se mantuvieron, con excepción del pH que fue estadísticamente diferente entre las mermeladas al final del periodo de almacenamiento.

En las mermeladas no se observó presencia de hongos en ninguno de los muestreos lo que pudo deberse a la acción del conservador para la del M1 o bien a la a_w para el M2, así como exclusión del oxígeno y la inocuidad con la que se procesaron (Desrosier, 2000). Una forma de controlar el desarrollo de microorganismos en los alimentos es mediante la a_w . La mermelada se encuentra en el grupo de alimentos de humedad intermedia con un a_w entre 0.85-0.60, en este rango las bacterias patógenas no crecen, aunque puede ocurrir alguna alteración por microorganismos fúngico del tipo xerófilos, osmófilos o halófilos (USDA, 2010).

El porcentaje de humedad fue diferente para las mermeladas de los dos métodos; la del M1 fue de 53.1% y para la M2 fue de 45.5 % al tiempo 0; después de tres meses la humedad de las mermeladas se mantuvo sin mayores cambios.

Cuadro 2. Medias de las variables físicas de estudio de las mermeladas de ACK al tiempo 0 y a los 3 meses de almacenamiento.

Método	Tiempo 0				3 meses			
	% H	pH	^aaw	SST	% H	pH	^aaw	SST
M1	53.1 ^a	3.20a	0.8510a	63.6b	53.4a	3.23b	0.8495a	63.5b
M2	45.5b	3.24a	0.7975b	67.6a	45.9b	3.28a	0.8010b	67.4 ^a
DMS	1.31	0.089	0.0131	1.07	1.23	0	0.0348	1.44

^H Porcentaje de humedad de las mermeladas; SST=Sólidos Solubles Totales, aw= actividad de agua. Valores con letras iguales dentro de columna son estadísticamente iguales (Tuckey, $\alpha = 0,05$). DMS= diferencia mínima significativa.

3.2 Variables químicas

3.2.1 Acidez titulable

Los valores de esta variable al tiempo 0 fueron de 1. 5 % y 1.2 % para las mermeladas producidas bajo los métodos M1 y M2, en ese orden; al final del periodo de almacenamiento el valor de AA para la mermelada del M1 cambió a 1.4 %, en tanto en la del M2 se mantuvo sin cambios (datos no mostrados).

3.3 Fenoles solubles totales y antocianinas totales

Los FST en la mermelada de ACK representan todos aquellos compuestos en cuya estructura se encuentra un grupo fenol, tales como antocianinas, ácidos fenólicos y otros flavonoides. El contenido de FST en la mermelada producida bajo el M1 fue de 487.3 mg equivalentes de ácido gálico (EAG) $(100\text{ g})^{-1}$ de mermelada en el tiempo 0, a los tres meses disminuyó hasta 355.38 mg de EAG $(100\text{ g})^{-1}$ de mermelada, lo que representa una reducción de 27 %. La mermelada producida bajo el M2 presentó 487.3 mg EAG $(100\text{ g})^{-1}$ de mermelada en el tiempo 0, a los tres meses el valor de esta variable se ubicó en 334.9 mg EAG $(100\text{ g})^{-1}$ de mermelada, lo que representa una pérdida de 21 % (Figura 3A).

De los fenoles presentes en el fruto de ACK, uno de los grupos más importantes son las antocianinas, que son inestables a diferentes factores, entre los cuales los más importantes son la luz y la presencia de oxígeno. La concentración de antocianinas en el tiempo 0 para la mermelada procesada bajo el (M1) fue de 346 mg equivalentes de cianidina-3-glucósido (ECG) $(100\text{ g})^{-1}$ de mermelada; en la del M2 fue de 315.70 mg ECG $(100\text{ g})^{-1}$ de mermelada. Al tercer mes (fin de periodo de almacenamiento) los valores observados fueron de 181 y 172.9 mg ECG $(100\text{ g})^{-1}$ de mermelada para las obtenidas con los métodos M1 y M2, respectivamente (Figura 3B). Estos resultados significan que se perdió un 47.7% de antocianinas totales en la mermelada del M1 y 45.2% en la elaborada con el M2. Dicha variación no se debe al contenido de humedad, ya que en base seca presenta el mismo comportamiento.

De los FST en la mermelada de ACK la mayor proporción son antocianinas, el resto lo integran los ácidos fenólicos y otros flavonoides que al parecer son más estables que las antocianinas.

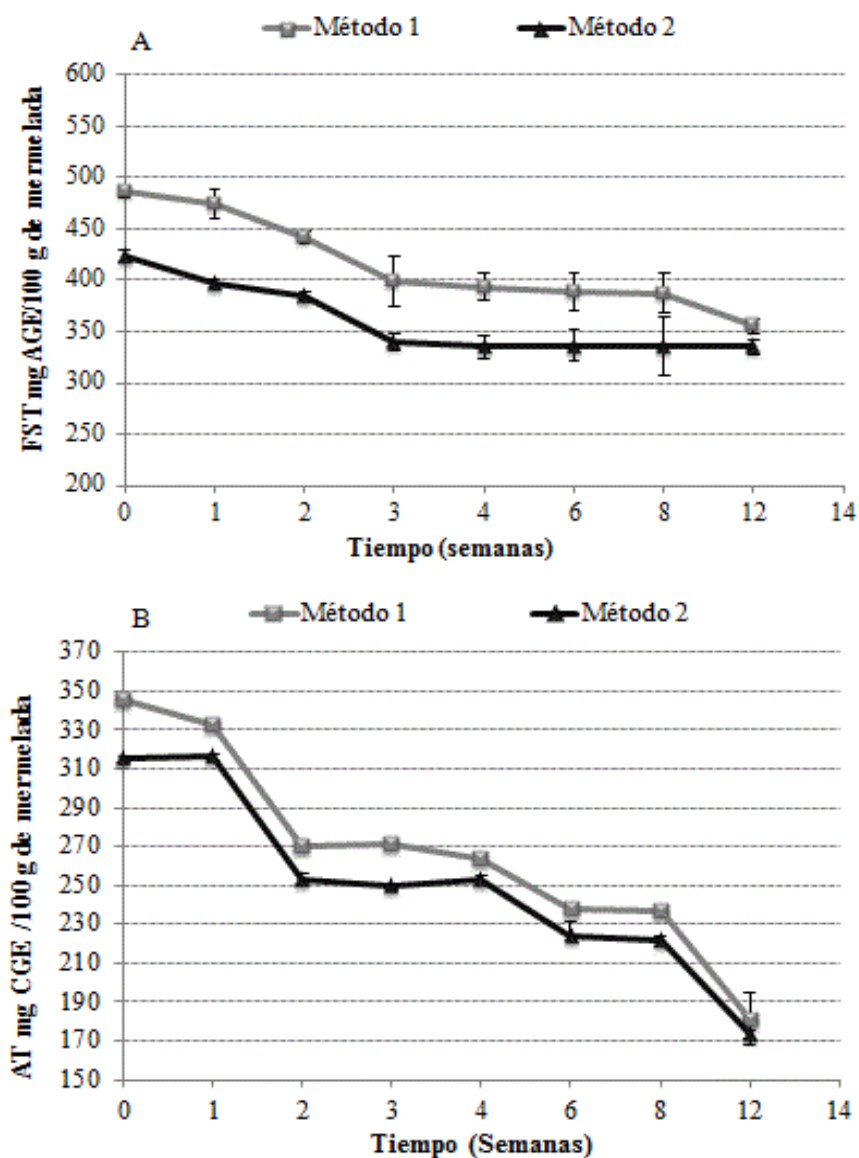


Figura 2. Contenido de fenoles solubles totales (FST), y contenido total de antocianinas (TA) en mermelada de chagalapoli.

La magnitud del daño también se ve influenciada por otros factores tales como: pH, SST y la presencia de azúcares y polifenoles. A pH bajo mejora la estabilidad de las

antocianinas (Mok y Hettiarachchy 1991; Kim y Padilla-Sakour, 2004), mientras que un alto contenido de SST causa un efecto negativo (Rhim, 2002). Las interrelaciones químicas que se establecen entre los diferentes fenoles de los frutos contribuyen a la estabilidad de las antocianinas (Kim y Padilla-Sakour, 2004).

Los azúcares a altas concentraciones, como ocurre en las conservas de frutas, estabilizan las antocianinas. Este efecto se cree que es debido a la disminución de la actividad del agua (Ngo *et al.*, 2007). El ataque nucleofílico del agua sobre el catión flavilio ocurre en la posición C-2, formándose una base carbinol incolora. Cuando los azúcares están presentes en concentraciones lo suficientemente bajas como para tener poco efecto sobre la a_w , pueden acelerar la degradación de las antocianinas. A concentraciones bajas, la fructosa, arabinosa, lactosa y sorbosa tienen un efecto degradativo mayor sobre las antocianinas que la glucosa, sacarosa y maltosa. La velocidad de degradación de las antocianinas sigue la velocidad de degradación del azúcar a furfural (Fennema, 2000).

3.4 Identificación de antocianinas en mermelada de ACK por HPLC

El perfil de antocianinas de la mermelada fue el mismo que el del fruto en el que se apreciaron 10 diferentes antocianinas (Figura 4). Durante el almacenamiento no se observó que alguna de las antocianinas fuese más susceptible a degradarse ya que los porcentajes relativos de área al tiempo 0 y después de 12 semanas de almacenamiento fueron prácticamente iguales (Cuadro 2). El pico más importante, integrado por peonidina 3 glucósido y malvidina 3-glucósido que co-eluyen, fue el que mayor reducción mostró durante el periodo de almacenamiento.

La susceptibilidad a la degradación durante el almacenamiento es diferente entre las antocianinas. Gancel *et al.* (2010) mencionan que en bebidas de zarzamora almacenadas a 5°C y 30 °C, la cianidina 3-glucósido y la cianidina- 3 malonilglucósido fueron las más afectadas después de 35 días de almacenamiento a 5 °C disminuyeron en un 10% y 20% respectivamente. Cuando se almacenaron a 30 °C, la tasa de degradación incrementó significativamente con reducciones entre el 30 y 70% después de un mes de almacenamiento.

Ngo *et al.* (2007), reportan pérdidas de antocianinas a diferentes temperaturas de almacenamiento (10, 21 y 38 °C) por 9 semanas, lo que le atribuyen principalmente a la temperatura y tiempo de almacenamiento.

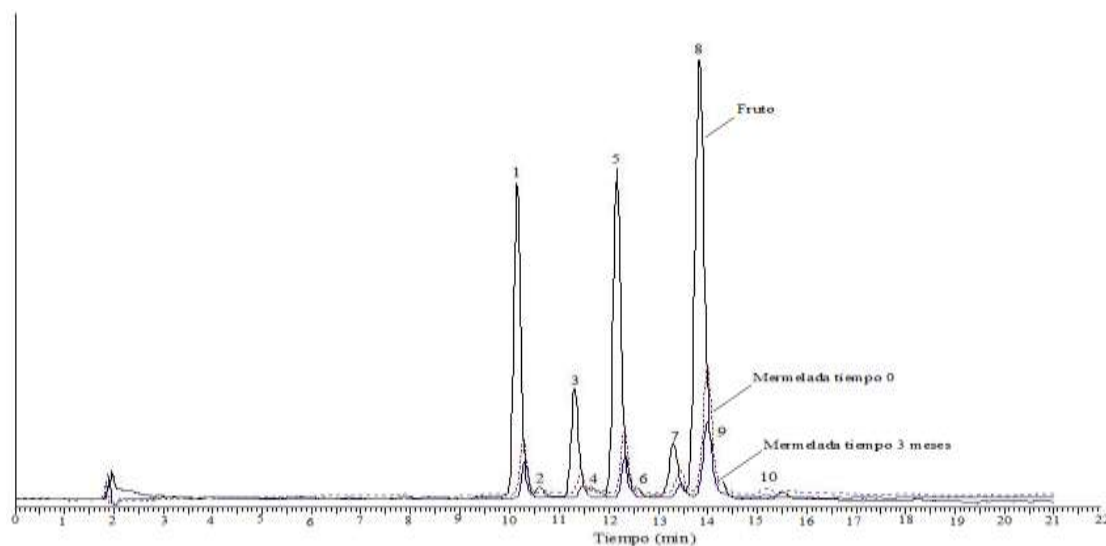


Figura 3. Cromatograma de antocianinas del jugo y mermelada de ACK al tiempo 0 y después de 12 semanas de almacenamiento. Identidad de los picos: 1)Desconocido, 2)Desconocido, 3)Delfinidina 3-Glucósido, 4)Desconocido, 5)Desconocido, 6)Cianidina 3-rutinósido, 7)Desconocido 8 y 9)Peonidina 3-Glucósido y malvidina 3-Glucósido, 10)Desconocido.

Cuadro 3. Identidad de antocianinas, tiempo de retención y porcentaje relativo de área de mermelada de frutos de *Ardisia compressa* K. elaborada bajo el M1.

Pico	Antocianina	^a Tr (min)	M1 (tiempo 0)	M1 (3 meses)
			PRA (%)	PRA (%)
1	Desconocido	10.67	15.15±0.7	16.63±0.1
2	Desconocido	11.135	0.71±0.1	0.84±0.1
3	Delfinidina 3- glucósido	11.815	5.27±0.2	5.19±0.2
4	Desconocido	12.19	0.73±0.1	0.56±0.01
5	Desconocido	12.745	18.96±0.1	19.83±0.4
6	Cianidina 3-rutinósido	13.16	0.43±0.1	0.48±0.1
7	Desconocido	13.85	6.98±0.1	6.71±0.3
8 y 9	Peonidina 3- glucósido y malvidina 3- glucósido	14.45	46.94±0.4	43.20±1.2
10	Desconocido	16.47	1.41±0.62	1.23±0.02

Media±desviacion estandar obtenido del análisis (n=2). ^aTr: Tiempo de retención. ^bPRA (%): porcentaje relativo de área

3.5 Actividad antioxidante

El comportamiento de la actividad antioxidante de las mermeladas por los métodos de ABTS y DPPH se muestra en el Cuadro 4. Bajo los dos métodos aplicados para medir la AA de las mermeladas se observó que ésta decreció con el tiempo de almacenamiento. Con el método ABTS resultó que la mermelada del M1 redujo su AA en 24% con respecto a la AA inicial (tiempo 0); para la del M2 la reducción fue de 19%. Lo obtenido con el método del DPPH fue en el mismo sentido, pero en este caso la reducción para la

del M1 fue de 14% y en la del M2 de 12%. La reducción de la AA en las mermeladas durante el almacenamiento podría atribuirse a la pérdida de FST. Dentro de estos las AT pudieran estar más relacionadas, ya que fueron las que más se perdieron fenoles en las mermeladas. Los valores obtenidos entre los dos métodos son similares; Kuskoski *et al.*, (2004) mencionan que el ABTS se aplica en compuestos de naturaleza hidrofílica o lipófila. También mencionan que a mayor concentración de Trolox mayor actividad antioxidante y viceversa.

Cuadro 4. Actividad antioxidante de extractos metanólicos de mermelada de ACK, por los métodos de ABTS y DPPH

Tiempo (meses)	ABTS		DPPH	
	M1^a	M2^a	M1^a	M2^a
0	21.8±1.0a	18.5±0.5a	20.53±0.1a	19.43±0.4a
1	18.6±0.6a	17.0±0.2a	19.78±0.2a	18.09±0.2b
2	17.6±0.04a	16.9±1.3a	17.8±0.7a	17.36±0.4a
3	16.5±1a	15.0±0.3a	17.70±0.31a	17.10±0.2a

^a μ M equivalentes de Trolox/g de mermelada. Media±desviación estándar obtenido del análisis (n=2). Valores con letras iguales dentro de columna son estadísticamente iguales (Tuckey, $\alpha = 0,05$).

Los frutos y sus derivados son una fuente valiosa para incrementar la ingesta de compuestos antioxidantes en la dieta de los consumidores, por lo que el fruto chagalopoli fresco y su mermelada representa una alternativa.

La actividad antioxidante de un producto alimenticio, sea éste fruto fresco o producto procesado, se debe principalmente al contenido de polifenoles (Heinonen *et al.*, 1998).

Sin embargo cuando los frutos son procesados para obtener jugos, néctares o mermeladas, sus polifenoles sufren una degradación que va a ser diferente para cada compuesto fenólico en particular. Las antocianinas se consideran más susceptibles que los ácidos fenólicos (Szajdek y Borowska, 2008). En el presente trabajo se observó que las AT se degradaron más rápido que los FST (Figura 3 a y b). Dentro de los FST se encuentran las antocianinas, pero también ácidos fenólicos y otros flavonoides que al parecer fueron más estables al almacenamiento y que poseen actividad antioxidante.

4. CONCLUSIONES

Las AT presentaron una mayor reducción que los FST en las mermeladas durante el período de almacenamiento y se observó efecto del método de elaboración en la estabilidad dichos compuestos.

Al final del periodo de almacenamiento, la mermelada procesada bajo el M1 presentó una pérdida de 47 % de antocianinas totales y 27 % de fenoles solubles totales; la del M2 presentó pérdidas de 45.2 % y 21 % respectivamente.

El perfil de antocianinas no se modificó durante el almacenamiento, pero si las proporciones relativas de cada una.

La AA de las mermeladas disminuyó durante el tiempo de almacenamiento. Con el método ABTS la mermelada del M1 redujo su AA en 24 % con respecto al tiempo 0; para la del M2 la reducción fue de 19 %. Lo obtenido con el método del DPPH presentó el mismo comportamiento, pero en este caso la reducción para la M1 fue de 14% y en la M2 de 12%.

5. LITERATURA CITADA

- Ames B.N. and Gold L.S. 1991. Endogenous mutagens and the causes of aging and cancer. *Mutat Res*;250:3–16.
- AOAC. 1998. Official Methods of Analysis of AOAC International, 16 th edition. Cap: 25-45. Vol. 2. Part. 1. 934.06, 932.12, 942.15. Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- Benvenuti S., Pellati E., Melegari M. and Bertelli D. 2004. Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of rubus, ribes and aronia. *Journal of Food science* Vol. 69 N. 3: 164-169.
- Brownmiller C., L.R. Howard, and R.L. Prior. 2008. Processing and Storage Effects on Monomeric Anthocyanins, Percent Polymeric Color, and Antioxidant Capacity of Processed Blueberry Products. *Journal of Food Science*. Vol. 73, N. 5.
- Desrosier W. Norman. 2000. Conservación de alimentos. Compañía editorial continental. Vigésima sexta edición. México.
- Fenema, O. R., 2000. Química de los alimentos. Segunda edición, editorial Acribia, S. A. España, 1258 p.
- Fossen, T., Slimestad, R., & Andersen, M. O. 2001. Anthocyanins from maize (*Zea mays*) and reed canarygrass (*Phalaris arundinacea*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49, 2318-2321.
- Gancel Anne-Laure, Feneuil Aurélien, Acosta Oscar, Mercedes Pérez Ana, Vaillant Fabrice. 2011. Impact of industrial processing and storage on major polyphenols and the antioxidant capacity of tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichus*). *Food Research International* 44: 2243-2252.
- Hager A., Howard L.R., Prior R.L., y Brownmiller C. 2008. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of Processed Black Raspberry Products. *Journal of Food Science*. Vol. 73, Nr. 6-H134-H140.

- Heinonen, I. M. Meyer, A. S. , Frankel, E. N. 1998. Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 46:4107-4112.
- Hernández García Ariadna. 2007. Caracterización del proceso de elaboración del vino de fruto chagalapoli (*Ardisia compres* K.) de la región de los Tuxtlas, Veracruz. Tesis.
- Kim, D. O., & Padilla-Zakour, O. I. 2004. Jam Processing Effect on Phenolics and Antioxidant Capacity in Anthocyanin-rich Fruits: Cherry, Plum, and Raspberry. *Journal of Food Science*, 9, S395-S400.
- Knekt P., Jarvinen R., Seppanen R.1997. Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *Am J Epidemiol*;146:223–30.
- Kuskoski E. M., Asuero G. A., García-Parilla M. C., Troncoso A. M. y Fett R. 2004. Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 24(4): 691-693.
- Makkar, H. P. S. 2002. Quantification of Tannins in Tree and Shrub Foliage. Kluwer Academic Publishers, Viena, Austria. pp: 49-99.
- Mok, C. & Hettiarachchy NS. 1991. Heat stability of sunflower-hull anthocyanin pigment. *Journal of Food Science* , 56, 553–5.
- Ngo T., R.E. Wrolstad, and Zhao Y. 2007. Color Quality of Oregon Strawberries—Impact of Genotype, Composition, and Processing. *Journal of Food Science*. Vol. 72 N°. 1, C25-C32.
- Ochoa M. R., Kessler A.G., Vullioud M.B., Lozano J.E. 1999. Physical and chemical characteristics of raspberry pulp: storage effect on composition and color. *LebensmWiss.Technol* 149:149–53.
- Patras Ankit & Brunton Nigel P. & Tiwari B. K. & Butler Francis. 2011. Stability and Degradation Kinetics of Bioactive Compounds and Colour in Strawberry Jam during Storage. *Food Bioprocess Technol* 4:1245–1252.
- Re Roberta, Nicoletta Pellegrini, Anna Proteggente, Ananth Pannala, Min Yang y Catherine Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 26, N°. 9/10, pp. 1231–1237.
- Rhim, J.W. 2002. Kinetics of thermal degradation of anthocyanin pigment solutions driven from red flower cabbage. *Food Science Biotechnology*, 11,361–364.

- Salinas-Moreno, Y., Salas-Sánchez, G., Hernández-Rubio, D., & Ramos-Lobato, N. 2005. Characterization of anthocyanin extracts from maize kernels. *Journal of Chromatographic Science*, 43, 445-500.
- Rui Hai Liu. 2003. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am J Clin Nutr*; 78 (suppl):517S–20S. Printed in USA. © 2003 American Society for Clinical Nutrition.
- Skrede G, Wrolstad RE, Durst RW. 2000. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *J Food Sci* 65:357–64.
- Srivastava A, Akoh CC, Yiw, Fischer J, Krewer G. 2007. Effect of storage conditions on the biological activity of phenolic compounds of blueberry extract packed in glass bottles. *J Agric Food Chem* 55:2705–13.
- Soler-Rivas, C., Espin, J. C., & Wichers, H. J. 2000. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. *Phytochemical Analytical*, 11, 330-338.
- Szajdek Agnieszka y Borowska. E. J. 2008. Bioactive Compounds and Health-Promoting Properties of Berry Fruits: A Review. *Plant Foods Hum Nutr.* 63:147–156. DOI 10.1007/s11130-008-0097-5.
- Tosun M., Ercisli S., Karlidag H. and Sengul M. 2009. Characterization of Red Raspberry (*Rubus idaeus* L.) Genotypes for Their Physicochemical Properties. Vol. 74, N°. 7, *Journal of Food Science*. C575-C579.
- Trošć K., Golc-Wondra A., Prošek M., and Milivojević L. 2008. Anthocyanin Degradation of Blueberry–Aronia Nectar in Glass Compared with Carton during Storage. Vol. 73, N°. 8, 2008. *Journal Of Food Science*. S405-S411.
- USDA. Servicio de Inocuidad e Inspección de los Alimentos Departamento de Agricultura de los Estados Unidos USDA. Información sobre Inocuidad de Alimentos. Consultada: 18/09/2011.
http://www.fsis.usda.gov/PDF/Molds_Are_They_Dangerous_SP.pdf