

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ingeniería



DETERMINACIÓN DEL EFECTO DEL PROCESAMIENTO DE
BEBIDAS SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA UVA
(*VITIS VINÍFERA*), GUAYABA (*PSIDIUM GUAJAVA L.*) Y
MANGO (*MAGNIFERA INDICA L.*)

Andrea Moscoso Girón

Guatemala
2010

DETERMINACIÓN DEL EFECTO DEL PROCESAMIENTO DE
BEBIDAS SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA UVA
(*VITIS VINÍFERA*), GUAYABA (*PSIDIUM GUAJAVA L.*) Y
MANGO (*MAGNIFERA INDICA L.*)

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ingeniería

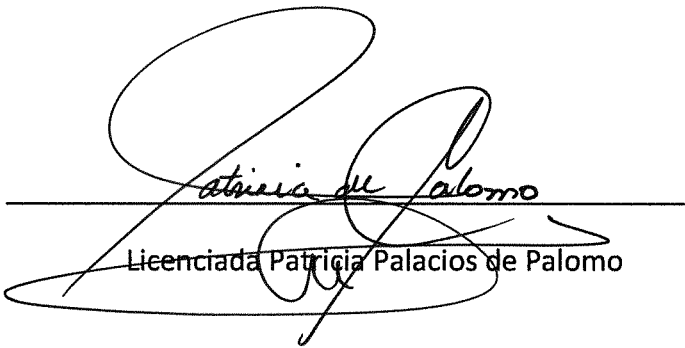


DETERMINACIÓN DEL EFECTO DEL PROCESAMIENTO DE
BEBIDAS SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA UVA
(*VITIS VINÍFERA*), GUAYABA (*PSIDIUM GUAJAVA L.*) Y
MANGO (*MAGNIFERA INDICA L.*)

Trabajo de investigación presentado por
Andrea Moscoso Girón
para optar por el grado académico de
Licenciatura en Ingeniería en Ciencias de Alimentos


Guatemala
2010

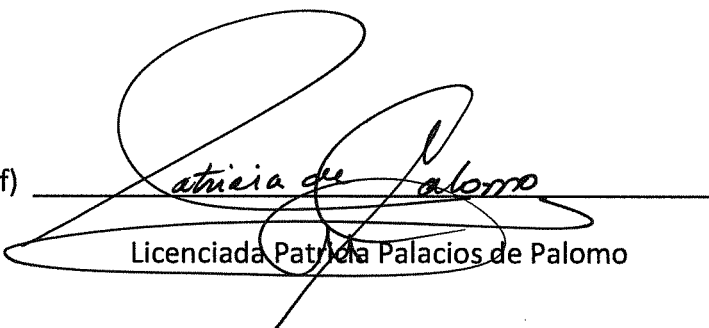
Vo. Bo.:

(f) 
Licenciada Patricia Palacios de Palomo

Tribunal Examinador:

(f) 
Licenciada Ana Silvia Colmenares de Ruiz

(f) 
Doctor Ricardo Bressani

(f) 
Licenciada Patricia Palacios de Palomo

Fecha de aprobación: Guatemala, 29 de enero de 2010

ÍNDICE

LISTA DE CUADROS	vi
LISTA DE GRÁFICOS	vii
RESUMEN	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	2
III. ANTECEDENTES.....	7
IV. JUSTIFICACIÓN.....	11
V. OBJETIVOS.....	12
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
VII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	18
VIII. CONCLUSIONES.....	26
IX. RECOMENDACIONES.....	27
X. BIBLIOGRAFÍA.....	28

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
Cuadro I	Actividad antioxidante de diferentes frutas y la cantidad de compuestos fenólicos.....	14
Cuadro II	Especificaciones fisicoquímicos de los concentrados de uva, guayaba y mango.....	20
Cuadro III	Parámetros Fisicoquímicos de los concentrados y néctares de uva, guayaba y mango.....	24
Cuadro IV	Contenido de Vitamina C en concentrados y néctares de uva, guayaba y mango.....	25
Cuadro V	Diferencias entre los diferentes métodos de medición de la capacidad antioxidante (Método Tukey a un nivel de significancia del 0.05%)	26
Cuadro VI	Correlación de Pearson entre métodos.....	26
Cuadro VII	Actividad antioxidante de los concentrados y néctares de uva, guayaba y mango expresada en mg de ácido ascórbico/100g.....	28
Cuadro VIII	Porcentaje de reducción de la capacidad antioxidante en concentrados de fruta a néctar de frutas.....	30

LISTA DE GRÁFICOS

FIGURA		PÁGINA
Figura I	Capacidad antioxidante de los concentrados y néctares de uva, guayaba y mango medidos con diferentes métodos de captación de radicales.....	29
Figura II	Efecto de la elaboración de néctares en la capacidad antioxidante medido por diferentes métodos de captación de radicales.....	30

RESUMEN

Se llevó a cabo un estudio del efecto del proceso de elaboración de néctares en la capacidad antioxidante de la uva, la guayaba y el mango partiendo desde los concentrados de estas frutas. Debido a que cada concentrado tiene una composición química y física diferente se realizó el análisis con tres diferentes métodos de medición de actividad antioxidante; estos métodos se basan en medir la inhibición del color que se genera sobre los radicales coloreados debido a la acción de los extractos de fruta. Los métodos utilizados fueron los del radical DPPH(ampliamente utilizado), el del radical DMPD y el ABTS. La capacidad antioxidante se expresó como mg de ácido ascórbico por 100 g de muestra.

Se midieron las características fisicoquímicas de los concentrados de fruta y de los néctares, así como el contenido de vitamina C en ellos. Debido a que los néctares contienen dentro de sus ingredientes ácido ascórbico fue necesario realizar néctares sin este ingrediente para utilizarlo como blanco para determinar la actividad real en el néctar. De las frutas evaluadas la uva fue la que obtuvo el mayor valor de actividad antioxidante seguido de la guayaba y el mango.

Al realizar la determinación de la capacidad antioxidante, se determinó, a un nivel de significancia del 0.05% que existe diferencia significativa entre el método DMPD y los métodos del DPPH y ABTS, no así entre estos dos últimos métodos.

Luego de haber realizado las mediciones se determinó que el proceso de pasteurización reduce entre la capacidad antioxidante de la uva entre un 25 a 76%, la guayaba entre un 62 a 81% y el mango entre 65 a 90%, los valores varían dependiendo el método que se utiliza para la determinación. De esto se obtuvo que la diferencia en la capacidad antioxidante entre los concentrados de frutas y los néctares es estadísticamente significativa.

Se elaboró un néctar de fruta de la mezcla de concentrados de uva, guayaba y mango, encontrando un efecto sinérgico en la capacidad antioxidante pues el valor fue levemente más elevado que el del néctar de uva.

I. INTRODUCCIÓN

Debido al incremento de las enfermedades degenerativas, actualmente el ser humano está en busca de compuestos que ayuden a reducir el riesgo de padecer este tipo de enfermedades. Las frutas y vegetales son ampliamente conocidas por su capacidad para reducir el estrés oxidativo, sin embargo es necesario evaluar el efecto que tiene el procesamiento industrial de estos productos para poder explotar al máximo sus propiedades antioxidantes.

A pesar de que el ser humano posee una defensa natural contra la oxidación muchas frutas aportan compuestos que ayudan a capturar los radicales libres generados en el organismo. La uva es conocida por poseer un alto contenido de polifenoles que son compuestos antioxidantes, asimismo la guayaba y el mango, a pesar de que contiene una menor cantidad de polifenoles son altos en el contenido de ácido ascórbico lo cual también ayuda a reducir el estrés oxidativo en el ser humano.

Existen diversos métodos para evaluar la actividad antioxidante ya sea *in vitro* o *in vivo*. (9) Una de las estrategias más aplicadas en las medidas *in vitro* de la capacidad antioxidante total de un compuesto, consiste en determinar la actividad del antioxidante frente a radicales libres; la pérdida de color ocurre de forma proporcional con la concentración. Sin embargo, se debe considerar que los compuestos interactúan entre sí pudiendo producirse efectos sinérgicos o inhibitorios. Los ensayos *in vivo* pueden presentar algunos inconvenientes, como la adaptabilidad en respuesta al aumento del estrés oxidativo. Existen diferentes compuestos que generan radicales libres (ABTS, DPPH, DMPD, DMPO y FRAP) y que son utilizados para determinar la capacidad de los compuestos fenólicos que contienen los frutos para captar los radicales libres generados.

II. MARCO TEÓRICO

Existe un número creciente de datos experimentales, clínicos y epidemiológicos que demuestran los efectos beneficiosos de los antioxidantes frente a las enfermedades degenerativas inducidas por el estrés oxidativo y las enfermedades relacionadas con la edad (cáncer y envejecimiento) por lo que se ha generado un gran interés hacia el papel que ejercen los antioxidantes. (1)

El ser humano está protegido del estrés oxidativo gracias a la acción de varios antioxidantes que poseen diferentes funciones. Algunos son enzimas y proteínas y otros son pequeñas moléculas antioxidantes. Los alimentos son importantes fuentes de tales antioxidantes; además, se han desarrollado una gran cantidad de antioxidantes sintéticos y algunos de ellos se han empleado en la práctica como aditivos alimentarios, suplementos y fármacos. (1)

En la realización de diversos estudios, se ha encontrado una relación directa entre la oxidación de moléculas biológicas, membranas y tejidos, inducida por el oxígeno activo y mediada por radicales libres y el aumento en la prevalencia en las enfermedades degenerativas en los seres humanos. Asimismo, es sabido que los compuestos polifenólicos tienen una alta capacidad antioxidante, es decir que se puede disminuir o prevenir los procesos de oxidación celular. Debido a que los radicales libres se producen constantemente “in vivo” se ha desarrollado en los humanos mecanismos de defensa antioxidante, como medio de protección. La enzima superóxido dismutasa remueve el oxígeno, convirtiéndolo en peróxido de hidrógeno, el cual es transformado por las enzimas catalasa y glutatión peroxidasa en agua. Además el cuerpo humano también posee moléculas que remueven los radicales libres por reacción directa, tales como el glutatión reducido, los tocoferoles y el ácido ascórbico.(13)

El estrés oxidativo se genera cuando la defensa antioxidante no logra capturar todos los radicales libres por lo que estos se acumulan en el organismo, lo cual puede provocar daño celular. En las frutas y legumbres se encuentran la mayor cantidad de compuestos antioxidantes como los son los compuestos fenólicos, el ácido ascórbico, los tocoferoles y los carotenoides.

A. Antioxidantes

Los primeros investigadores de nutrición enfocaron el empleo de antioxidantes para prevenir la oxidación de grasas insaturadas y la causa de rancidez. La actividad antioxidante podría ser medida simplemente colocando grasa en un contenedor cerrado de cristal con el oxígeno y observando la tarifa de consumo de oxígeno. Sin embargo, fue la identificación de la vitamina A, C y la E que revolucionaron el campo de los antioxidantes y condujeron a la realización de la importancia de los mismos en la biología. Se reconoció que una sustancia con actividad antioxidante es aquella que es un blanco para la oxidación. (9)

Los compuestos fenólicos o polifenoles provienen del metabolismo secundario de las plantas. Químicamente son compuestos que tienen al menos un anillo aromático al que están unidos uno o más grupos hidroxilo. Existe una gran variedad de compuestos fenólicos, y se clasifican en flavonoideos, formados por dos anillos aromáticos unidos por un heterociclo oxigenado y que dependiendo del grado de hidrogenación y de la sustitución del heterociclo son, flavonoles, flavonas, isoflavonas, antocianos, proantocianidinas, flavanonas, etc. y se encuentran generalmente en forma de glicósidos, y los no flavonoideos, compuestos benzoicos y cinámicos, llamados comúnmente ácidos fenólicos, que contienen un anillo aromático con diferentes grupos funcionales, y que pueden estar formando ésteres con los ácidos orgánicos. Otros compuestos de naturaleza polifenólica son estilbenos, taninos, ligninas y lignanos. Algunas de las propiedades de los productos de origen vegetal, como color, astringencia y aroma son debidas a la presencia de compuestos de este tipo. En los últimos años los polifenoles han cobrado gran interés por sus propiedades beneficiosas para la salud, sobre todo como agentes antioxidantes. (8)

Uno de los factores más importantes que determina la actividad antioxidante de los polifenoles es su grado de hidroxilación y la posición de los hidroxilos en la molécula. Los flavonoideos debido a su heterociclo oxigenado muestran mayor actividad que los no flavonoideos. A su vez la solubilidad y los efectos estéricos de cada molécula pueden verse afectados por el tipo de estructura de dicha molécula, como es el caso de los derivados glicosilados y otros aductos, lo que puede aumentar o disminuir la actividad antioxidante. Los compuestos flavonoides se suelen encontrar en los vegetales en forma de glicósidos, pero la acción de enzimas o de algunos procesos puede liberar la correspondiente aglicona. La actividad de los ácidos fenólicos está también en función de los grupos hidroxilo del anillo aromático y de la

unión de estos compuestos a ácidos orgánicos y/o a azúcares para formar ésteres. Los mecanismos por los que actúan todos estos compuestos varían dependiendo de su concentración y tipos de compuestos presentes en los alimentos. (7)

El estrés oxidativo y la peroxidación lipídica son los causantes de un gran número de enfermedades crónicas que incluyen cáncer, enfermedades cardiovasculares, cataratas y demencia. Algunos estudios han demostrado que el consumo de frutas y hortalizas puede reducirla incidencia y mortalidad de estas enfermedades (15) y, hasta donde se conoce, este efecto protector está determinado por la presencia de agentes antioxidantes en estos alimentos, principalmente polifenoles. Un antioxidante previene el daño oxidativo inhibiendo la generación de especies reactivas, capturando los radicales libres o aumentando el nivel de antioxidantes endógenos protectores. (11) El aporte de polifenoles en la dieta puede estar entre 50 y 800 mg/día, dependiendo del consumo de productos que lo contienen. Un nivel importante de antioxidantes, se alcanza cuando el consumo es de unos 800 mg/día. (3)

1. Medición de la actividad antioxidante. Existen diversos métodos para evaluar la actividad antioxidante ya sea *in vitro* o *in vivo*. De las pruebas *in vitro*, se utilizan comúnmente dos tipos de prueba. La primera implica la transferencia de átomos de hidrógeno como en el método ORAC, en donde los antioxidantes y sustratos compiten por los radicales peroxilo generados térmicamente. El segundo método se basa en la transferencia de electrones, que implica la reducción de un compuesto oxidante coloreado, consiste en determinar la actividad del antioxidante frente a radicales libres; la pérdida de color ocurre de forma proporcional con la concentración. Sin embargo, se debe de considerar que los compuestos interactúan entre si pudiendo producirse efectos sinérgicos o inhibitorios. Los ensayos *in vitro* pueden presentar algunos inconvenientes, como la adaptabilidad en respuesta al aumento del estrés oxidativo. Existen diferentes compuestos que generan radicales libres (ABTS, DPPH, DMPD, DMPO y FRAP) y que son utilizados para determinar la capacidad de los compuestos fenólicos que contienen los alimentos para captar los radicales libres generados. El método ABTS se basa en la generación de un radical $ABTS\cdot^+$ de color azul verdoso que puede reducirse con los antioxidantes. De igual forma, los métodos DPPH y DMPD generan radicales de color púrpura cuya decoloración depende de la reducción de los radicales debido a la presencia de antioxidantes. (7)

Los métodos más aplicados son ABTS y DPPH. Ambos presentan una excelente estabilidad en ciertas condiciones, aunque también muestran diferencias. El DPPH es un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa, mientras que el ABTS tiene que ser generado tras una reacción que puede ser química (dióxido de manganeso, persulfato potasio) enzimática (peroxidasa, mioglobulina), o también electroquímicamente. Con el ABTS se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, mientras que el DPPH solo puede disolverse en medio orgánico, y el DMPD sólo en medio acuoso. El radical ABTS^{•+} tiene, además, la ventaja de que su espectro presenta máximos de absorbancia a 414, 654, 754 y 815 nm en medio alcohólico, mientras que el DPPH presenta un pico de absorbancia a 515 nm y el DMPD a 505 nm. (8)

B. Frutos tropicales

1. Uva (*Vitis Vinífera*). La uva es altamente reconocida en la alimentación humana por su alto valor energético en azúcares, sales minerales y vitaminas. Sin embargo, en los últimos años se ha incrementado su funcionalidad, ya que se ha demostrado que posee un alto contenido de compuestos glucosídicos, las antocianinas, que son ampliamente conocidos por tener una alta capacidad antioxidante. (11)

Los polifenoles encontrados en las uvas son compuestos muy diversos y pueden clasificarse en cuatro grupos. El primer grupo es el de los ácidos fenólicos. El segundo grupo es el de las antocianinas, donde destaca el resveratrol. El tercer grupo son los flavonoides simples, compuestos por catequina, epicatequina y quercetina. Por último, se encuentra el grupo de los flavonoides complejos, como las proantocianidinas. Los polifenoles en la uva se distribuyen de manera asimétrica: en la semilla se encuentra el 60% de los polifenoles extraíbles de la uva, en la cáscara se encuentra el 30% de los polifenoles extraíbles de la uva, principalmente antocianidinas (resveratrol); y en la pulpa de la uva hay menos del 10% del total de los polifenoles extraíbles de la uva. (11)

2. La Guayaba (*Psidium guajava L.*). Es una fruta tropical que generalmente se consume fresca. Es considerada como una fruta nutritiva debido a que contiene altos niveles de ácido ascórbico (50-300mg/100g de pulpa), que es aproximadamente tres veces mayor que lo que

contiene la naranja. Además posee altos niveles compuestos fenólicos tal como miriceteina, ácido ellagico y antocianinas. (15)

3. El mango (*Mangifera indica L.*). Puede ser considerado como una buena fuente de antioxidantes, como ácido ascórbico, carotenoides y compuestos fenólicos. Estudios realizados con ratas alimentadas con 10% de mango, confirmaron la reducción de los efectos citotóxicos por la optimización de los mecanismos oxidativos enzimáticos. Se ha reportado que la cáscara del mango contiene un número importante de compuestos como polifenoles y carotenoides. (18)

III. ANTECEDENTES

A. Capacidad antioxidante

Estudios recientes sugieren que los fitoquímicos encontrados en las plantas alimenticias pueden tener efectos beneficios para la salud, ya que su consumo puede prevenir el estrés oxidativo que se derivan a trastornos metabólicos. Los polifenoles, que son los fitoquímicos más abundantes, han demostrado poseer una alta capacidad antioxidante, y las frutas son los principales contribuyentes de estos compuestos.

En el cuerpo humano, el metabolismo oxidativo genera radicales libres que son altamente reactivos como el radical superóxido ($O_2\cdot$) el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el radical óxido nítrico ($NO\cdot$) y el oxígeno singulete (1O_2). Aparte de estos radicales generados por el cuerpo humano, este está constante expuesto a radiaciones electromagnéticas generando radicales $OH\cdot$. Compuestos como los tocoferoles, el ácido ascórbico o compuestos polifenólicos remueven los radicales libres del cuerpo.

Actualmente, debido al mal uso de sustancias químicas tóxicas, el cuerpo humano está más propenso a producir radicales libres por lo que es necesario consumir sustancias que reduzcan el estrés oxidativo. En estudios realizados en frutas y verduras se concluyó que los compuestos polifenólicos son los principales responsables de la capacidad antioxidante. Murillo (2002) realizó estudios en frutas en donde se obtuvieron los siguientes valores de capacidad antioxidante en extractos de frutas:

Cuadro I. Actividad antioxidante de diferentes frutas y la cantidad de compuestos fenólicos

FRUTA	NOMBRE SISTEMÁTICO	Cl ₅₀ (μL)	Compuestos fenólicos mg/100g
Guinda	<i>Ziziphus</i>	1.8±0.2	448±32
Guanábana	<i>Anona Muricata</i>	2.0±0.9	368±42
Uva Panameña	<i>Flacourtia jangomas</i>	2.1±0.3	375±60
Caimito	<i>Chysohyllum caimito</i>	2.2±0.8	380±51
Chirimoya	<i>Annona Cherimola</i>	2.4±0.3	401±20
Guayaba	<i>Psidium guajava</i>	2.5±0.6	210±25
Mangotín	<i>Spondias dulcis</i>	3.0±0.7	165±32
Marañón	<i>Anacardium occidentale</i>	3.1±0.5	186±35

Cuadro I. Continuación

FRUTA	NOMBRE SISTEMÁTICO	CI ₅₀ (μL)	Compuestos fenólicos mg/100g
Carambola	<i>Averrhoa carambola</i>	3.9±0.6	192±40
Plátano Verde	<i>Musa paradisiaca (AAB)</i>	4.5±0.6	145±36
Noni	<i>Morinda citrifolia</i>	5.1±0.4	138±42
Ciruela	<i>Spondia pupurea</i>	5.3±0.3	140±13
Guaba	<i>Inga sp.</i>	7.5±0.4	135±9
Tomate de árbol	<i>Cyphomandra betacea</i>	7.5±0.9	125±30
Granadilla	<i>Passiflora quadrangularis</i>	7.6±0.5	100±11
Algarrobo	<i>Hymenea courvaril</i>	8.1±0.4	87±7
Mango	<i>Magnifera indica</i>	8.4±1.5	102±10
Nance	<i>Bysornima crassifolia</i>	8.5±1.2	129±17
Naranjilla	<i>Solanum quitoense</i>	8.8±0.5	103±13
Guineo	<i>Musa Sapiense</i>	9.7±2.3	74±10
Papaya	<i>Carica papaya</i>	11.4±1.0	60±7
Mamey	<i>Pouteria sapota</i>	14.4±2.0	83±11
Jobo	<i>Spondias mombin</i>	14.9±1.8	80±9
Plátano Maduro	<i>Musa paradisiaca (AAB)</i>	16.7±0.9	50±7
Naranja	<i>Citrus sinensis</i>	18.3±0.8	64.2±7
Limón	<i>Citrus limón</i>	18.8±1.1	66.7±4
Toronja	<i>Citrus paradasi</i>	20.4±2.1	64±2
Maracuyá	<i>Possiflora edulis</i>	20.8±2.0	60±5
Mamón chino	<i>Nephelium lappaceum</i>	21.1±0.7	110.2±2
Zapote	<i>Quararibea cordata</i>	21.4±1.3	102.9±5
Níspero	<i>Manilkara zapota</i>	22.3±1.4	66.1±3
Jagua	<i>Genipa americana</i>	25.6±1.5	58±4
Borojó	<i>Borojoa patinoi</i>	26.9±1.3	72±6

Tal como se puede observar, la guinda es el fruto que posee la mayor capacidad antioxidante (menor valor CI₅₀) así como la mayor cantidad de compuestos fenólicos, es decir que la cantidad de compuestos fenólicos está directamente relacionada con la capacidad antioxidante.

En un estudio donde se evaluó la capacidad antioxidante en bebidas (2004) (11) se encontró que el contenido de compuestos polifenólicos está directamente relacionado con la actividad antioxidante de las bebidas; las bebidas de frutas con mayor cantidad de compuestos fenólicos tienen mayor capacidad antioxidante. Sin embargo, es importante considerar que la capacidad antioxidante de una mezcla no es la suma de las capacidades antioxidantes de cada uno de sus compuestos, existen otros factores como el microambiente

que afectan la medición. Los compuestos pueden interactuar para producir efectos sinérgicos o inhibitorios.

En Estados Unidos se realizó un estudio de la capacidad antioxidante de diferentes alimentos conocidos por su alto contenido de compuestos fenólicos, isoflavonas y antocianinas. Para esta medición utilizaron los métodos ABTS y DPPH, encontrando una correlación positiva entre ambos métodos. Para la uva encontraron valores de 214.4 ± 48.5 y 182.9 ± 36.8 equivalentes de vitamina C, y para el mango 63.9 ± 3.4 y 72.4 ± 6.4 , con los métodos ABTS y DPPH respectivamente. (6)

B. Medición de la capacidad antioxidante

Existen diferentes métodos para la determinación de la capacidad antioxidante. Según Kuskoski (2004) (6), los métodos más utilizados son aquellos en los que intervienen los radicales ABTS y DPPH y con menor frecuencia el DMPD. El DPPH es un radical que puede obtenerse directamente (no es necesario realizar una reacción) al contrario del ABTS y DMPD que tienen que ser generados utilizando una reacción química o enzimática. El método del ABTS se utiliza para medir la capacidad antioxidante de compuestos con características tanto hidrofílicas como lipofílicas, mientras que el DPPH solamente se puede disolver en medio orgánico y el DMPD sólo se utiliza en medio acuoso. Realizando mediciones de la capacidad antioxidante utilizando el método del radical DMPD, se ha encontrado que ciertos ácidos de las frutas pueden interferir con los resultados, como lo es el ácido cítrico. Sin embargo, es necesario realizar mediciones utilizando este radical para correlacionar con los otros métodos y observar como interactúa en una red alimentaria como las bebidas. De estos tres métodos, el del radical ABTS se realiza en el menor tiempo, ya que el tiempo de espera para medir la absorbancia es corto, por lo que los resultados son reproducibles. El método del DPPH es uno de los métodos más utilizados debido a su simplicidad, estabilidad y reproducibilidad (1).

Con los métodos del DPPH, ABTS y DMPD se encontró una correlación directa entre la cantidad polifenoles y la capacidad antioxidante.

Actualmente existe poca información acerca del método apropiado para medir la capacidad antioxidante de los diferentes productos, por lo que se recomienda realizar por lo menos dos diferentes métodos para poder relacionar los resultados. (1).

C. Proceso de pasteurización de bebidas

La pasteurización es el proceso térmico realizado con el objetivo de reducir los agentes patógenos que pueden contener bacterias, mohos levaduras, entre otros microorganismos. En bebidas de frutas, debido a que éstas poseen un pH alrededor de 3.5, la pasteurización se realiza para evitar específicamente el crecimiento de mohos y levaduras.

Con el tratamiento térmico de las bebidas se busca la reducción de la carga microbiana, alterando lo menos posible la estructura física, los componentes químicos y las propiedades organolépticas de las bebidas. Tras el proceso de pasteurización, los productos se enfrían rápidamente y se sellan herméticamente con fines de seguridad alimentaria. La pasteurización se emplean generalmente temperaturas por debajo del punto de ebullición del alimento, ya que en la mayoría de los casos las temperaturas superiores afectan irreversiblemente ciertas características físicas y químicas del producto alimenticio.

Existen tres tipos de procesos bien diferenciados: pasteurización lenta, pasteurización a altas temperaturas durante un breve periodo de tiempo y el proceso a ultra-altas temperaturas, siendo los últimos dos los más utilizados en el área de bebidas. Para bebidas de frutas generalmente se utiliza el proceso de pasteurización a altas temperaturas durante un breve período de tiempo. Este tipo de pasteurización se puede llevar a cabo en un proceso continuo o por lotes. En el proceso por lote, el líquido se calienta en una marmita y se mantiene una temperatura de 88-92°C por 15 segundos. En un proceso continuo se utiliza un intercambiador de placas para mantener esa temperatura durante los 15 segundos.

IV. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años, se ha investigado la relación entre los antioxidantes y la prevención de enfermedades crónicas como las cardiovasculares, numerosos tipos de cáncer y otras enfermedades asociadas con el proceso de envejecimiento. La tendencia actual en el mercado es el de aumentar el consumo de alimentos que contengan un alto poder antioxidante como las frutas y vegetales y junto con estas se relaciona los derivados de estos productos alimenticios, como el vino, que es altamente conocido por poseer un alta capacidad antioxidante.

Sin embargo, es necesario conocer el efecto del procesamiento en la capacidad antioxidante de las frutas, ya que durante la elaboración de bebidas de frutas, tales como los néctares, se utilizan temperaturas elevadas para alcanzar la esterilización del producto. Asimismo, debido a que la cosecha de frutas tropicales como la uva, la guayaba y el mango son estacionarias, es necesario utilizar un método de preservación para tener disponible la fruta durante todo el año. Por lo que se elaboran concentrados de estas frutas que se almacenan, generalmente, en bolsas asépticas. Este proceso de concentración, reconstitución y esterilización, puede modificar el poder antioxidante del producto terminado.

Como es sabido, la capacidad antioxidante de las frutas no es acumulativo, de esta forma un néctar elaborado con la mezcla de los concentrados de uva, mango y guayaba no tendrá la capacidad antioxidante acumulativa de estos concentrados individualmente. Por lo tanto es necesario evaluar como esta mezcla de frutas interactúa y determinar la capacidad antioxidante de la mezcla.

A pesar de que son concentrados y néctares de frutas, cada uno de estos tiene una composición química diferente formando una red alimentaria que interactúa de diferentes maneras con los radicales libres disponibles para realizar la cuantificación del poder antioxidante. Es por esto que es necesario evaluar los métodos de captación de radicales comúnmente utilizados (DPPH, ABTS y DMPD) para poder determinar una correlación entre los métodos y establecer cuál es el óptimo para evaluar la capacidad antioxidante en los concentrados y néctares de uva, guayaba y mango.

V. OBJETIVOS

A. GENERALES

- Determinar el efecto en la actividad antioxidante del procesamiento de elaboración de bebidas de uva, guayaba y mango.

B. ESPECÍFICOS

- Determinar los cambios en la actividad antioxidante durante el proceso de elaboración de néctar de uva, guayaba y mango a partir del concentrado de las frutas.
- Determinar la capacidad antioxidante de un néctar elaborado de la mezcla de concentrados de mango, uva y guayaba.
- Comparar los métodos químicos de captación de radicales (DPPH, ABTS y DMPD) para la determinación de la capacidad antioxidante en los concentrados y néctares de uva, guayaba y mango.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Obtención de las muestras

Los concentrados de frutas son de las siguientes variedades:

- Uva (*Vitis vinifera*) de la variedad Carignan
- Guayaba (*Psidium guajava* L) de la variedad Blich.
- Mango de la variedad Tommy Atkins

Los concentrados de las frutas fueron entregados por empresas productoras de este tipo de productos cumpliendo con las siguientes especificaciones:

Cuadro II. Especificaciones fisicoquímicos de los concentrados de uva, guayaba y mango

Concentrado	°Brix	Acidez
Uva	68 ±1.0	2.0±0.5 % ácido tartárico
Guayaba	16 ±1.0	0.80±0.2 % ácido cítrico
Mango	21± 1.0	0.60 0.3 % ácido cítrico

B. Elaboración de bebidas

1. Néctar de mango.

- Se mezclan los ingredientes: agua, concentrado de mango, azúcar, ácido cítrico y ácido ascórbico.
- Se pasteuriza a 75°C y se envasa.
- Se aplica choque térmico.

2. Néctar de guayaba.

- Se mezclan los ingredientes: agua, concentrado de guayaba, azúcar, ácido cítrico y ácido ascórbico.
- Se pasteuriza a 75°C y se envasa.
- Se aplica choque térmico.

3. Néctar de uva

- Se mezclan los ingredientes: agua, concentrado de uva, azúcar, ácido málico y ácido ascórbico.
- Se pasteuriza a 75°C y se envasa.
- Se aplica choque térmico.

4. Néctar de mezcla de mango, guayaba y uva.

- Se mezclan los ingredientes: agua, concentrado de mango, concentrado de guayaba, concentrado de uva, azúcar, ácido cítrico y ácido ascórbico. Los porcentajes de participación de concentrados en la mezcla se realizó en base a las características organolépticas.
- Se pasteuriza a 75°C y se envasa.
- Se aplica choque térmico.

Se realizaron duplicados de cada bebida pero eliminando el ácido ascórbico de la mezcla para evaluar el efecto de este aditivo en la capacidad antioxidante y poder aislar el efecto de los concentrados de frutas.

C. Determinación del poder antioxidante

Para la medición de la capacidad antioxidante se tomaron los concentrados de frutas que se encuentran envasados en bolsa aséptica. Para el caso de los néctares estos se elaboraron en el laboratorio realizando un proceso de pasteurización. Se evaluaron muestras con y sin ácido ascórbico para evaluar el efecto de este aditivo en la capacidad antioxidante de las muestras.

1. Determinación del poder antioxidante por el método DPPH. Se utilizó el método descrito por Molyneux (2004) y Murillo (2002):

- a. Diluir la muestra con metanol hasta que se produce un nivel de inhibición del 50% en comparación con la absorbancia del blanco, tras añadir 0.02 mL de la muestra.

- b. Extraer 0.1 mL de la muestra (concentrado o néctar), y agregar 1.4 mL de metanol y 1 mL de solución Buffer pH 6.
 - c. Preparar una solución de DPPH 50 μ M (0.022g/100mL).
 - d. Mezclar vigorosamente los reactivos en un tubo.
 - e. Mantener los tubos en la oscuridad durante 30 minutos y leer la absorbancia a 517 nm.
 - f. Medir la absorbancia de un blanco.
 - g. Presentar los resultados como la capacidad antioxidante equivalente al ácido ascórbico.
2. Determinación del poder antioxidante por el método ABTS. Se utilizó el método Descrito por Kuskoski (2005).
- a. El radical ABTS \cdot + se obtiene tras la reacción de ABTS (7mM) con persulfato potásico (2.45mM) incubados a temperatura ambiente y en la oscuridad por 16 horas.
 - b. Diluir el radical ABTS \cdot + con etanol hasta un valor de absorbancia entre 0.70 (\pm 0.1) a 734 nm.
 - c. Diluir la muestra (concentrado o néctar) con etanol hasta producir una inhibición del 20 al 80% en comparación con la absorbancia del blanco, tras añadir 0.02 mL de la muestra.
 - d. Medir 0.98 mL de la dilución del radical ABTS \cdot + y determinar la absorbancia a 734 nm. Añadir 0.02 mL de la muestra y medir la absorbancia cada 30 segundos por 7 minutos.

- e. Presentar los resultados como la capacidad antioxidante equivalente al ácido ascórbico.
3. Determinación de la actividad antioxidante por el método DMPD. Se utilizó el método establecido por Kuskoski (2005)
 - a. Añadir 1 mL de la disolución de DMPD 100mM a 100 mL de solución tamponada con ácido acético/acetato de sodio 0.1 M (pH 5.25).
 - b. Añadir 0.2 mL de solución de cloruro férrico 0.05M formando radicales cationes coloreados (DMPD^{•+}).
 - c. Preparar soluciones de la muestra con una concentración de 1000 mg/mL. Mezclar 0.02 mL de muestra con 0.28 mL de la solución DMPD^{•+}
 - d. Medir la absorbancia de esta solución a un longitud de onda de 490 nm.
 - e. Presentar los resultados como la capacidad antioxidante equivalente al ácido ascórbico.
 4. Determinación del contenido de vitamina C.
 - a. Preparar solución de 2,6 diclorofenolindofenol: disolver 800 mg en 500 mL de agua caliente.
 - b. Elaborar una solución patrón de ácido ascórbico (1 mg/mL) y mezclar 2 mL con 10mL de ácido acético al 10% y 50 mL de agua destilada.
 - c. Titular con la solución de 2,6 diclorofenolindofenol, hasta que un color ligeramente rosado persista por 15 s.
 - d. Expresar los resultados como mg de ácido ascórbico que son equivalentes con 1 mL de indicador.

- e. Titular 10 mL de néctar o concentrado de la misma manera que la solución patrón y calcular la cantidad de ácido ascórbico en 100 mL de bebida.
-
5. Análisis estadístico. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar las diferencias entre los métodos de medición del poder antioxidante. Posterior a este análisis se evaluó con la prueba tukey entre cuales métodos existía diferencia significativa. Los métodos fueron analizados según la correlación de Pearson.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los antioxidantes son sustancias que detienen o previenen una cadena de propagación oxidativa mediante la estabilización del radical libre generado. El organismo humano posee antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos para protegerse de estos radicales, sin embargo existen casos en el que la defensa antioxidante del cuerpo humano no es totalmente eficiente, por lo que se incrementa la formación de radicales en el organismo. El consumo de frutas y vegetales ayuda a reducir el estrés oxidativo, ayudando de esta manera a prevenir las enfermedades degenerativas. Es por esto que es importante estudiar la capacidad antioxidante en las frutas procesadas para poder informar sobre los beneficios de la misma.

El objetivo principal de este estudio era determinar el efecto del proceso de elaboración de néctares de fruta en la capacidad antioxidante, sin embargo es necesario conocer otros factores como los parámetros fisicoquímicos para tener una caracterización de los productos. En el cuadro III se presentan los parámetros fisicoquímicos medidos tanto para los concentrados de la fruta como para los néctares:

Cuadro III. Parámetros fisicoquímicos de los concentrados y néctares de uva, guayaba y mango

Producto	Brix	% ácido cítrico	pH
concentrado uva	64.9±2	2.3±0.06	2.9±0.06
concentrado guayaba	17.7±0.7	0.75±0.02	4.1±0.1
concentrado mango	22.0±0.7	0.45±0.02	3.8±0.05
Néctar de uva	13.3±0.1	0.31±0.02	3.3±0.04
Néctar de guayaba	12.8±0.6	0.22±0.03	3.5±0.06
Néctar de mango	12.1±0.2	0.22±0.02	3.2±0.1
Néctar mix de frutas	14.1±0.1	0.26±0.01	3.3±0.03

Como se puede observar existe una variación entre los parámetros de los concentrados de las frutas pero esta diferencia es significativa con el concentrado de uva que contiene la mayor cantidad de sólidos solubles y con un mayor porcentaje de acidez; además esta fruta no contiene tanta pulpa como la guayaba y el mango. Sin embargo, al elaborar los néctares, los concentrados se diluyen y los parámetros en estas bebidas son muy similares. Es decir que las mediciones de la capacidad antioxidante en los concentrados pueden variar debido a las diferencias entre ellos (el contenido de pulpa en la guayaba y mango es mayor

que en el concentrado de uva), no obstante la interferencia de este factor disminuye en los néctares pues los parámetros se igualan.

Otro parámetro importante a evaluar es la cantidad de vitamina C en los productos, ya que este actúa como antioxidante. En la elaboración de los néctares se agrega el ácido ascórbico con el objetivo evitar la degradación del color, además de ser una fuente de vitamina C. Adicionalmente, para poder obtener la cantidad de ácido ascórbico real en los néctares se elaboraron estos productos sin vitamina C añadida. A estos néctares sin ácido ascórbico se les midió la capacidad antioxidante para poder utilizarlos como blanco y eliminar la interferencia de este producto en las mediciones finales de poder antioxidante de los néctares. En el Cuadro IV se muestran los de cantidad de ácido ascórbico presente tanto en los concentrados como en los néctares.

Cuadro IV. Contenido de Vitamina C en concentrados y néctares de uva, guayaba y mango

Producto	Vitamina C (mg ácido ascórbico/100 g)
Concentrado uva	0.9±0.03
Concentrado guayaba	180.7±1.6
Concentrado mango	52.3±1.3
Néctar de uva	49.6±0.5
Néctar de guayaba	53.0±1.2
Néctar de mango	49.5±1.5
Néctar mix de frutas	52.0±0.6
Néctar de uva sin ácido ascórbico añadido	0.0±0.0
Néctar de guayaba sin ácido ascórbico añadido	12.5±0.3
Néctar de mango sin ácido ascórbico añadido	4.3±0.05
Néctar mix de frutas sin ácido ascórbico añadido	8.3±0.1

De las frutas analizadas, la uva es la que posee la menor cantidad de ácido ascórbico, es decir que su poder antioxidante está proporcionado principalmente por la presencia de polifenoles. La guayaba es la fruta que posee la mayor cantidad de vitamina C, seguida por el mango. En el caso de los néctares a los cuales se le adiciona la vitamina C, se obtuvieron valores de un rango de 49.0 a 53.0 mg ácido ascórbico/100g. Por otro lado los néctares sin ácido

ascórbico añadido obtuvieron valores cuyo comportamiento es similar al de los concentrados, con la excepción que el néctar elaborado con la mezcla de las tres frutas mostró un mayor valor de vitamina C que el mango, pero menor que el de guayaba.

Debido que la matriz alimentaria en las tres frutas es diferente fue necesario determinar la capacidad antioxidante con tres diferentes métodos para evaluar si existía diferencia en los resultados. Se evaluaron tres métodos de captación de radicales, el DPPH, DMPD y ABTS. Estos métodos se basan en calcular la inhibición que se da en el color del radical debido a la acción antioxidante de los extractos de fruta, como se puede observar en el Cuadro VI, los valores de la capacidad antioxidante son similares en el método DPPH y ABTS, pero varían representativamente con los valores del DMPD. A un nivel de confianza del 95% se determinó que la diferencia entre los resultados que se obtienen con el método del radical DMPD es significativa al compararla con los otros dos métodos como se muestra en el Cuadro V.

Cuadro V. Diferencias entre los diferentes métodos de medición de la capacidad antioxidante (Método Tukey a un nivel de significancia del 0.05%)

	ABTS vs DMPD*	ABTS vs DPPH*	DPPH vs DMPD*
Concentrado uva	+	-	+
Concentrado guayaba	+	-	+
Concentrado mango	+	-	+
Néctar uva	+	+	+
Néctar de guayaba	+	+	+
Néctar de mango	+	+	+
Néctar mix de frutas	+	-	+

- + Existe diferencia significativa
- No Existe diferencia significativa

Al realizar una correlación entre los métodos, se encontró una correlación positiva directa entre los métodos DPPH y ABTS, sin embargo con el método DMPD se encontró una relación pobre con ambos métodos como se puede observar en el Cuadro VI.

Cuadro VI. Correlación de Pearson entre métodos DPPH, DMPD y ABTS

	<i>DPPH</i>	<i>DMPD</i>	<i>ABTS</i>
<i>DPPH</i>	1	-	-
<i>DMPD</i>	0.279	1	-
<i>ABTS</i>	0.996	0.207	1

La razón por la cual los resultados varían entre los diferentes métodos se debe a que los radicales formados interactúan de diferentes maneras con los extractos de las frutas las cuales a su vez tienen diferente composición química. Según la literatura, el radical DMPD reacciona fácilmente con los ácidos orgánicos presentes en las frutas (como ácido cítrico o ácido tartárico) lo cual provoca interferencia afectando los resultados. Otro de los factores que es determinante en las variaciones de la actividad antioxidante en frutas son los máximos de absorción de longitud de onda los radicales formados; las mediciones con el radical DPPH se realizaron a una longitud de onda de 517 nm, los del DMPD a 490 nm, mientras que el del radical ABTS tiene un máximo de absorbancia a 734 nm, con lo cual se elimina la interferencia de pigmentos de la fruta por estar midiendo en la región cercana a la infrarroja. Asimismo, en el Cuadro V, se puede apreciar que existe diferencia significativa entre los métodos DPPH y ABTS solamente en los análisis de los néctares no así en el de los concentrados. Es decir que existe una relación entre los métodos en pulpas de frutas sin ingredientes añadidos, pero esta relación se pierde al incorporar ingredientes que pueden causar interferencia.

Los valores con los métodos de DPPH y ABTS son muy similares por lo que para el caso de las frutas analizadas (la uva, la guayaba y el mango). El método del DPPH tiene la ventaja de no es necesario formar el radical libre, al contrario de los radicales DMPD y ABTS los cuales es necesario agregar un agente oxidante para formar los radicales coloreados. A pesar de que con el ABTS se necesitan 16 horas para formar el radical, las mediciones de absorbancia se realizan a los 6 minutos de reacción contra 30 minutos que se debe de esperar con el método DPPH.

Para la elaboración de los néctares de fruta se parte desde la pulpa de fruta la cual es concentrada por evaporación hasta alcanzar los niveles de sólidos solubles deseados. Durante este proceso se aplica energía en forma de calor a la pulpa; en estudios anteriores se ha determinado que el calor degrada los agentes antioxidantes presentes en la fruta (ácido ascórbico, polifenoles y antocianinas), por lo que durante este proceso de concentración se empieza a degradar la

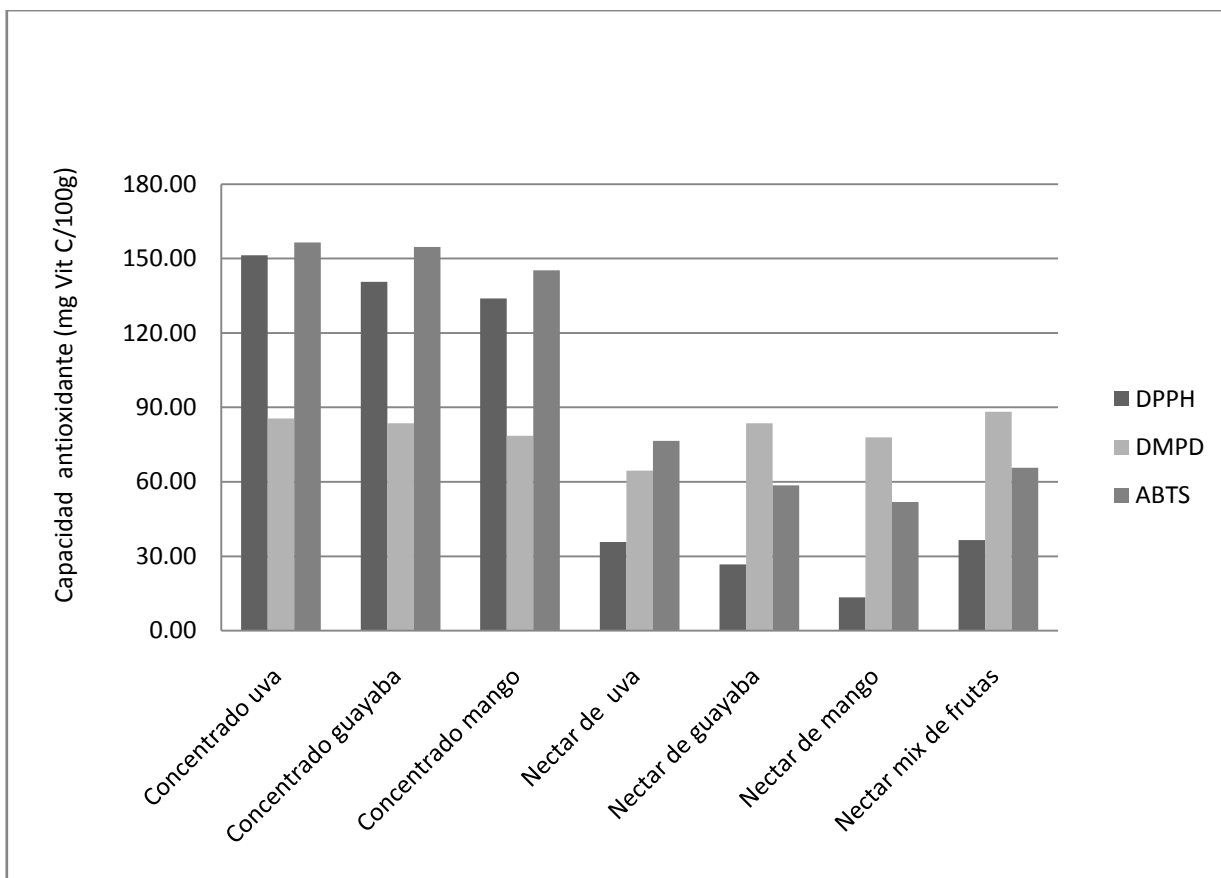
actividad antioxidante de la fruta. Si se compara con los valores encontrados en la literatura ⁶, la pulpa de la uva tiene una capacidad antioxidante de 214.4±48.5 y 182.9±36.8 equivalentes de ácido ascórbico, con los métodos ABTS y DPPH respectivamente, lo que implica una reducción promedio del 20% de la capacidad antioxidante por el proceso de concentración. Durante la elaboración del néctar de frutas, el concentrado se diluye y es pasteurizado a 90°C durante 15 segundos, por lo que en esta etapa del proceso es donde se lleva a cabo la mayor degradación de los compuestos antioxidantes de la fruta.

Cuadro VII. Actividad antioxidante de los concentrados y néctares de uva, guayaba y mango expresada en mg de ácido ascórbico/100g

Producto	Método de medición de actividad antioxidantes		
	DPPH	DMPD	ABTS
Concentrado uva	151.40±2.6	64.53±1.9	156.53±3.3
Concentrado guayaba	140.60±2.2	80.14±0.4	154.67±4.5
Concentrado mango	133.90±0.5	78.61±4.3	145.32±4.6
Nectar de uva	35.80±0.4	85.54±1.3	76.49±3.2
Nectar de guayaba	26.70±1.8	83.61±0.5	58.62±3.3
Nectar de mango	13.45±0.8	77.99±0.3	51.91±1.9
Nectar mix de frutas	36.51±1.3	88.30±0.6	65.69±4.0

Como era de esperarse, los valores de la capacidad antioxidante son mayores en los concentrados de la fruta que en los néctares, tal como se puede observar en la Figura 1 (a excepción de los valores obtenidos con el método DMPD por las razones previamente descritas). La uva es la fruta que mayor capacidad antioxidante tanto en el concentrado como en la bebida, sin embargo su contenido de ácido ascórbico es bajo, por lo que se concluye que son los compuestos polifenólicos los que le proporcionan todo su poder antioxidante. Siguiendo el orden descendente, la guayaba es la siguiente fruta con mayor poder antioxidante y por último se encuentra el mango.

Figura 1. Capacidad antioxidante de los concentrados y néctares de uva, guayaba y mango medidos con diferentes métodos de captación de radicales.



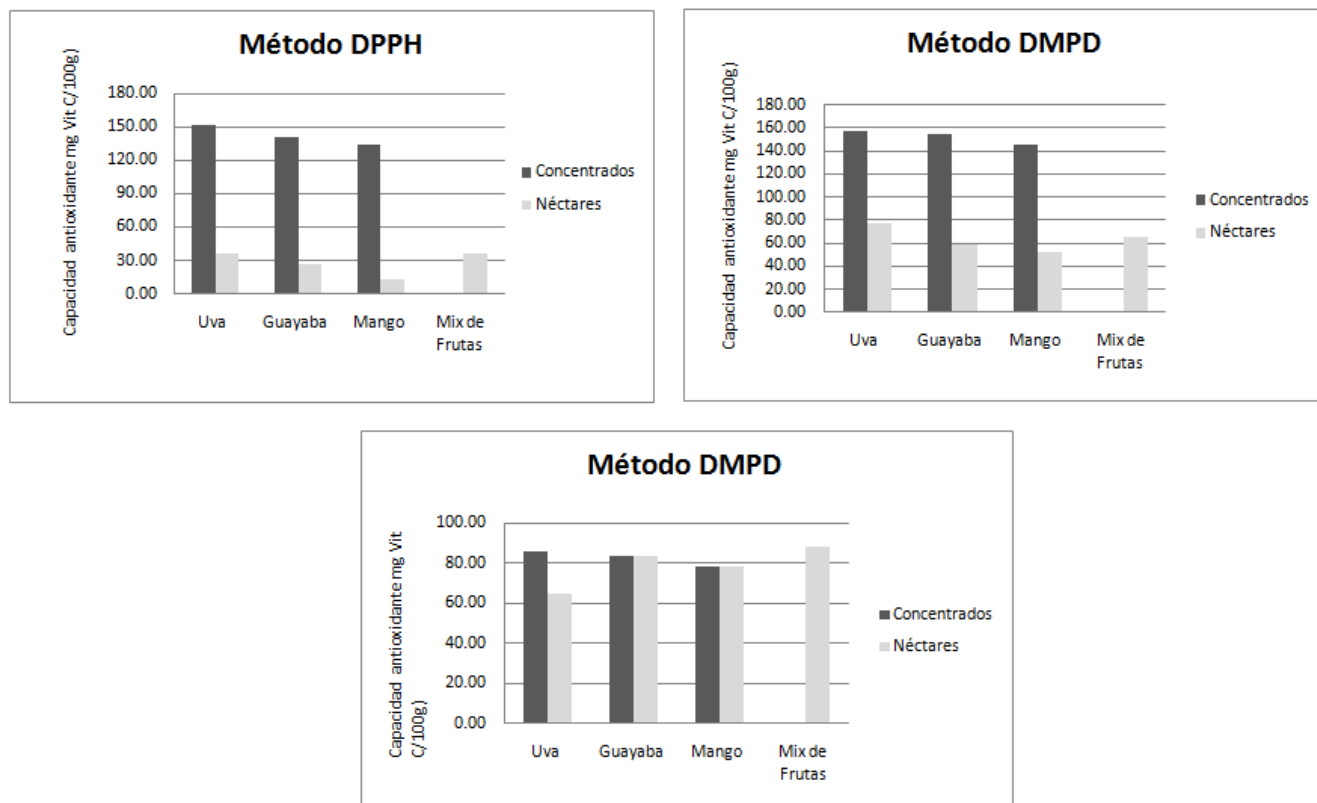
En el Cuadro VIII se puede observar el porcentaje de reducción que se obtiene por el proceso de elaboración de los néctares de fruta. En este caso se observa una relación inversamente proporcional, a menor capacidad antioxidante de la fruta mayor es el porcentaje de inhibición. Como se mencionó, el concentrado de uva presenta su mayor poder antioxidante debido a los compuestos fenólicos presentes, sin embargo en el caso de los concentrados de guayaba y mango, el contenido de ácido ascórbico es elevado por lo que la reducción en la capacidad antioxidante se debe principalmente a la degradación del ácido ascórbico.

Cuadro VIII. Porcentaje de reducción de la capacidad antioxidante en concentrados de fruta a néctar de frutas

Fruta	Porcentaje de reducción de la capacidad antioxidante		
	DPPH	DMPD	ABTS
Uva	76.35%	24.56%	51.14%
Guayaba	81.01%	0.00%	62.10%
Mango	89.96%	0.78%	64.28%

A pesar de que los porcentajes de reducción son elevados, en la Figura 2 se puede apreciar que a pesar del procesamiento al que son sometidas las frutas, en los néctares todavía se encuentra alrededor del 30% de la capacidad antioxidante. Actualmente no existe un valor de referencia para el poder antioxidante recomendado en la dieta humana, por lo que es posible realizar una declaración del contenido de compuestos antioxidantes simplemente por la naturaleza del producto.

Figura 2. Efecto de la elaboración de néctares en la capacidad antioxidante medido por diferentes métodos de captación de radicales



Debido a que hoy en día la población está enfocada en buscar alimentos que puedan traer un beneficio para la salud, se elaboró un néctar que contenía la mezcla de los tres concentrados utilizados, teniendo un mayor porcentaje de participación la uva, seguido de la guayaba y un leve porcentaje de mango. Las cantidades agregadas se calcularon con base en un perfil de sabor que fuera agradable al paladar. La medición del valor de la capacidad antioxidante de este néctar fue de un valor similar o superior al del néctar de uva, por lo que esta mezcla puede ser una opción para los consumidores que desean obtener un beneficio antioxidante de estos concentrados.

VIII. CONCLUSIONES

1. Con un nivel de significancia del 5% se encontró que existe diferencia significativa entre DMPD y los métodos DPPH y ABTS; adicionalmente la diferencia al medir la capacidad antioxidante de los néctares es estadísticamente significativa.
2. El método para la medición de la capacidad antioxidante utilizando el radical DMPD no es el adecuado para realizar medición en productos de frutas ya que los ácidos orgánicos presentes interfieren con el radical y por ende con los resultados.
3. Con los métodos de DPPH y ABTS se pueden realizar mediciones de la capacidad antioxidante en frutas; el método del DPPH tiene la ventaja que no es necesario formar el radical para utilizarlo, pero el radical ABTS tiene un máximo de absorbancia cercano al infrarrojo con lo que se elimina la interferencia de pigmentos de la fruta, obteniendo resultados más reproducibles.
4. De las frutas evaluadas, la uva es la que contiene la mayor capacidad antioxidante seguida del la guayaba, siendo el mango la fruta que presenta la menor actividad antioxidante. Esta relación se pudo observar tanto en los concentrados de fruta como en los néctares.
5. Se encontró una relación inversamente proporcional entre la capacidad antioxidante y el porcentaje de inhibición del mismo en la elaboración de néctares, es decir que entre menor era la capacidad antioxidante mayor era el porcentaje de inhibición.
6. El néctar realizado con la mezcla de los concentrados de uva, guayaba y mango presento una actividad antioxidante similar a la de la uva, por lo que puede ser una alternativa novedosa para el mercado de bebidas.

IX. RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio del efecto del procesamiento de bebidas en la capacidad antioxidante controlando este parámetro desde las frutas frescas con el fin de evaluar el efecto de elaboración de los concentrados de frutas.
2. Elaborar pruebas sensoriales de aceptabilidad del néctar elaborado con la mezcla de concentrado de uva, guayaba y mango.
3. Medir la capacidad antioxidante con métodos que simulen el comportamiento de los antioxidantes dentro del cuerpo humano, como el método Briggs-Rauscher, que se trabaja a un pH aproximado de 2, simulando el pH del estómago.
4. Evaluar la relación de los métodos DPPH y ABTS con el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en las frutas para determinar una correlación.
5. Medir la capacidad antioxidante de los néctares de frutas pasteurizados con diferentes métodos y equipos para evaluar la alternativa que degrade en menor grado los antioxidantes.
6. Realizar el estudio con concentrados de otros tipos de frutas para obtener una mezcla óptima con capacidades antioxidantes elevadas.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Aguayo, R. *et al.* 2008. "Correlation between some nutritional components and the total antioxidant capacity measured with six different assays in eight horticultural crops". *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 56 (22):10498-10504
2. Ares, G. *et al.* 2008. "Influence of nutritional knowledge on perceived healthiness and willingness to try functional foods". [Uruguay]. *Appetite*.
3. Belina, J. 2007. *Evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de heliocarpus Terebinthinaceus*. Tesis Universidad Tecnológica de la Mixteca, México. Facultad de Ingeniería. Pp. 68
4. Bonilla, F. 2002. *Caracterización de los pigmentos antocianos en los primordios foliares de Miconia biappendiculata y Clusia Multiflora de un Bosque Andino*. Tesis Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. Facultad de Ciencias. Pp. 105.
5. Campbell, S. 1994. *Caracterización de la Guayaba*. Departamento de Ciencias Hortícolas, Florida Cooperative Extensión Service. Pp. 6
6. Floegel, A. *et al.* 2009. *Comparision of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods*. *Journal of Food Composition and Analysis*. 24: 1043-1048
7. Fogliano, V. 1999. *Méthod for Measuring Antioxidant Activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47 (3): 1035-1040.
8. Kuskoski, M. *et al.* 2005. *Aplicación de Diversos Métodos Químicos para Determinar Actividad Antioxidante en pulpa de frutos*. *Revista Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 25(4): 726-732.
9. Kuskoski, M. *et al.* 2004. *Actividad Antioxidante de pigmentos antociánicos*. *Revista Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 24(4): 156-160

10. Mazza, G. 1997. *Anthocyanins in Edible Plant Parts: A qualitative and quantitative assesment*. Antioxidant Methodology *in vivo* and *in vitriol* concepts. Illinois. Pp. 119-140.
11. Miñano, A. *et al.* Efecto de la concentración de sacarosa en la producción de antocianinas a partir de cultivos celulares de *Vitis vinífera L*, variedad Red globe. Revista Peruana de Biología. 11(2): 187-192.
12. Molyneux, P. 2003. *The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimatin antioxidant activity*.
13. Murillo, E. 2002. *Actividad Antioxidante de Bebidas de Frutas y De té comercializadas en Costa Rica*. Universidad de Panamá, Instituto de Alimentación y Nutrición. Pp.
14. Murillo, E. *Principales Antioxidantes de los Alimentos*. Universidad de Panamá, Instituto de Alimentación y Nutrición. 84-85
15. Siro, I. *et al.* 2008. "Functional Food: product developmente, marketing and consumer acceptance".[Hungaria]. *Appetite*. 1-10.
16. Thaipong, K. *et al.* 2006. *Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts*. Journal of Food Composition And Análisis. 19 (1): 669-675.
17. Walker, R. 2008. *Comparative Reaction Rates of Various Antioxidants with ABTS Radical Cation*. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 57 (4):1156-1161.
18. Zapata, L. 2007. *Estudio de los componentes antioxidantes y actividad antioxidante en tomates*. Ciencia, Docencia y Tecnología. 35(1): 173-193.
19. Machado, Z. *et al.* 2007. *Antioxidant in Mango (Mangifera indica L.) pulp*. Plant Foods Human Nutrition. 62(2):13-17