

ALIMENTOS

CIENCIA E INGENIERÍA

Vol. 22 (2) Diciembre 2014



REVISTA DE LA FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

ALIMENTOS, CIENCIA E INGENIERÍA

Revista de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos
de la Universidad Técnica de Ambato. Ambato (Ecuador).

Vol. 22 (2)-2014



Editorial

La Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato se complace en presentar la Revista indexada ALIMENTOS CIENCIA E INGENIERÍA, Volumen 22(2) – 2014 con artículos técnicos de tesis de grado e investigaciones en los campos de los alimentos y la biotecnología ejecutados por docentes, investigadores y graduandos. En la presente edición se incluyen artículos relacionados con la fisiología poscosecha de la mandarina; la caracterización de almendras de cacao nacional fino de aroma en zonas del Litoral y de frutas tropicales (arazá y naranjilla) y andinas (mora, mortiño, tomate de árbol y uvilla); la elaboración de geles alimenticios con maracuyá; el contenido de compuestos cianogénicos en hojas y capuchones de uvilla y sus implicaciones en la elaboración de té; los efectos de la borraja y la ortiga como acelerantes y enriquecedores nutritivos en el proceso de compostaje; la actividad antimicrobiana y fitoquímica de extractos de plantas medicinales frente a microorganismos patógenos; la estandarización de un método químico para cuantificar el contenido de suero de quesería en leche pasteurizada; la validación de métodos analíticos para el análisis de arsénico en agua potable y la caracterización de matrices de agua clara y residual; entre otros.

01

Es pertinente señalar que ALIMENTOS CIENCIA E INGENIERÍA cumple 22 años de publicación impresa y consta en el Directorio de LATINDEX; no obstante, quienes estamos a cargo de la presente edición nos hemos comprometido en mejorar la calidad de la Revista con el propósito de ser parte del Catálogo de LATINDEX, esto mediante el cumplimiento de todas las características editoriales requeridas para revistas impresas y un trabajo más riguroso del Comité Editorial. En adición, la incorporación de profesores que hacen investigación articulada a la docencia, el mejoramiento de la infraestructura tecnológica y el fortalecimiento de la vinculación de la Facultad con los sectores público y empresarial permitirán generar conocimiento e innovaciones que sean útiles al país y publicarlos en nuestra Revista. Este es nuestro compromiso con nuestros estimados lectores. Hasta la próxima edición.

Milton Ramos Moya
Decano FCIAL

ALIMENTOS, CIENCIA E INGENIERÍA

Revista de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.
Ambato (Ecuador).

TABLA DE CONTENIDOS

DESCRIPCIÓN	<i>pag. 03</i>
AUDIENCIA	<i>pag. 05</i>
INDEXACIÓN	<i>pag. 05</i>
DIRECTORIO	<i>pag. 05</i>
COMITÉ EDITORIAL	<i>pag. 05</i>
ISSN	<i>pag. 05</i>
TIRAJE	<i>pag. 05</i>
ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN	<i>pag. 05</i>
NOTAS DE INVESTIGACIÓN	<i>pag. 60</i>
GUÍA PARA AUTORES	<i>pag. 79</i>
<i>Tipos de publicaciones</i>	
<i>Principios generales</i>	
<i>Proceso editorial</i>	
<i>Formato</i>	
<i>Contenido de los artículos de investigación</i>	
<i>Contenido de los trabajos diferentes a los artículos de investigación</i>	



DESCRIPCIÓN

La revista ALIMENTOS CIENCIA E INGENIERÍA (ACI) es una publicación semestral de artículos técnicos de Tesis de Grado, Trabajos Estructurados de Manera Independiente, Trabajos de Investigación realizados en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos (FCIAL) de la Universidad Técnica de Ambato (UTA), así como contribuciones de otras Universidades e Instituciones con las cuales la Facultad mantiene convenios de cooperación mediante el intercambio científico y cultural con el propósito de contribuir en la búsqueda de respuestas adecuadas a las necesidades teórico-prácticas en materia de investigación, creación e innovación tecnológica.

AUDIENCIA

La revista cubre una amplia temática enmarcada en los ámbitos de la Ingeniería de Alimentos y la Biotecnología especialmente en su aspecto aplicado, orientándose a una audiencia compuesta por científicos del área de la química, bioquímica, microbiología y tecnología alimentaria, así como relacionados con la nutrición.

INDEXACIÓN

Latindex

DIRECTORIO

Dr. Galo Naranjo López, Rector, Universidad Técnica de Ambato (UTA)

Dra. Adriana Reinoso Núñez, Vicerrectora Académica, Universidad Técnica de Ambato (UTA)

MSc. Jorge León Mantilla, Vicerrector Administrativo, Universidad Técnica de Ambato (UTA)

Dr. Milton Ramos Moya, Decano Facultad Ciencia e Ingeniería en Alimentos, (UTA)

MSc. Lenin Garcés Espinoza, Subdecano Facultad Ciencia e Ingeniería en Alimentos (UTA)

COMITÉ EDITORIAL

Editor

Dr. Ignacio Angós, Investigador Prometeo (SENESCYT); Pamplona, España

Revisores internos

Dr. Milton Ramos, Universidad Técnica de Ambato (UTA); Ambato, Ecuador

Dr. Carlos Rodríguez, Universidad Técnica de Ambato (UTA); Ambato, Ecuador

Revisores externos

Dra. Pamela Jaramillo, Investigadora Prometeo (SENESCYT); Ambato, Ecuador

Dr. Borja Velásquez, Universidad Politécnica de Valencia (UPV); Valencia, España

Dr. Juan Sebastián Ramírez, Universidad del Valle (UNIVALLE); Cali, Colombia

Dra. Sandra Horvitz, Investigadora Prometeo (SENESCYT); Pamplona, España

ISSN

1390-2180

TIRAJE

500 ejemplares impresos en papel. Accesible online a través de: http://fcial.uta.edu.ec/index.php?option=com_content&view=article&id=78&Itemid=61

CONVOCATORIA PRÓXIMO NÚMERO

Fecha límite para entrega de manuscritos: 15 Marzo 2015. Publicación: Mayo 2015

Dirección envío manuscritos: Secretaría de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato, Av. Los Chasquis y Río Payamino, casilla 18-01-0334, Ambato (Ecuador). Teléfono: +593 (03) 2400 987 Ext. 103. Correo electrónico: revista.fcial@uta.edu.ec

ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN

- APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES A BASE DE QUITOSANO Y ALOE VERA SOBRE PAPAYA (*Carica papaya* L. cv. "Maradol") CORTADA
M. Castro, C. Rivadeneira, I. Mantuano, S. Santacruz, K. Ziani pag. 05-12
- CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y FUNCIONAL DE SEIS FRUTAS TROPICALES Y ANDINAS ECUATORIANAS
W. Llerena, I. Samaniego, M. Ramos, B. Brito pag. 13-22
- SUSTITUCIÓN PARCIAL DE AGAR-AGAR POR GELATINA EN LA ELABORACIÓN DE GOMITAS CON PULPA DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*)
P. Rodríguez, J. Ortiz pag. 23-29
- OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE FABRICACIÓN DE QUESO FRESCO CON SUSTITUCIÓN PARCIAL DE REQUESÓN
M. Moreno pag. 30-33
- ESTUDIO DEL CONTENIDO DE GRASA, ALCALOIDES Y POLIFENOLES TOTALES EN ALMENDRAS DE CACAO NACIONAL FINO DE AROMA EN ZONAS DEL LITORAL ECUATORIANO PARA COMPARAR SU CALIDAD Y FACILITAR SU COMERCIALIZACIÓN
C. Camino, S. Espín, I. Samaniego, C. Carpio pag. 34-40
- DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS CIANOGENICOS EN HOJAS Y CAPUCHONES DE UVILLA (*Physalis peruviana* L.), PERTENECIENTE AL ECOTIPO COLOMBIANO Y SUS IMPLICACIONES EN LA ELABORACIÓN DE TÉ
I. Molina, C. Carpio pag. 41-45
- EVALUACIÓN DEL EFECTO DE BORRAJA (*Borago officinalis*) Y ORTIGA (*Urtica dioica*), COMO ACELERANTE Y ENRIQUECEDOR NUTRITIVO EN EL PROCESO DE COMPOSTAJE
G. Paredes, L. Pérez pag. 46-52
- EVALUACIÓN DEL PROCESO DE MADURACIÓN DE LA UVILLA (*Physalis peruviana*) MEDIANTE LA CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES, ALMIDÓN E INVERTASA PARA DETERMINAR EL TIEMPO ADECUADO DE COSECHA
V. Herrera, C. Carpio pag. 53-59
- ## NOTAS DE INVESTIGACIÓN
- EFFECTO DEL GRADO DE MADURACIÓN Y ZONA DE CULTIVO EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LA MANDARINA (*Citrus reticulata*)
S. Aguagüña, D. Robalino, J. de D. Alvarado. pag. 60-66
- VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (RANGO BAJO, RANGO MEDIO, RANGO ALTO), SÓLIDOS TOTALES DISUELTOS, SÓLIDOS TOTALES SUSPENDIDOS EN MATRICES DE AGUA CLARA Y RESIDUAL EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y CONTROL AMBIENTAL "CICAM"
J. Jácome, M. Calle pag. 67-72
- VALIDACIÓN DE UN MÉTODO PARA ANÁLISIS DE ARSÉNICO EN AGUA POTABLE POR ABSORCIÓN ATÓMICA MEDIANTE GENERACIÓN DE HIDRUROS
C. Tafur, M. T. Pacheco pag. 73-78



APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES A BASE DE QUITOSANO Y ÁLOE VERA SOBRE PAPAYA (*Carica papaya* L. cv. "Maradol") CORTADA

USE OF EDIBLE FILMS BASED ON CHITOSAN AND ÁLOE VERA ON FRESH-CUT PAPAYA (*Carica papaya* L. cv. "Maradol")

M. Castro¹, C. Rivadeneira¹, I. Mantuano¹, S. Santacruz², K. Ziani^{2*}

¹Facultad de Ciencias Agropecuarias; ²Departamento Central de Investigación
Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Avenida circunvalación,
P.O. Box 13-05-2732, Manta (Ecuador)

Artículo recibido: 22/10/14

Artículo aceptado: 10/11/14

RESUMEN

La papaya cortada tiende a deteriorarse muy rápidamente, por lo que es necesario usar métodos de conservación que prolonguen su vida útil. El uso de recubrimientos comestibles aplicados a productos mínimamente procesados ha generado avances en la vida de anaquel de dichos alimentos. La presente investigación estudió la aplicación de recubrimientos comestibles en cubos de papaya, tratadas con soluciones compuestas por mezclas de quitosano y Aloe vera en las siguientes proporciones: Aloe vera 100%, quitosano + Aloe vera (50:50), quitosano + Aloe vera (75:25), quitosano + Aloe vera (90:10) y quitosano 100%. Los trozos de papaya se almacenaron a 4° C durante 12 días. Durante el almacenamiento se evaluaron cambios en la pérdida de peso, índice de deterioro, recuento microbiológico, acidez titulable, pH y sólidos solubles en los cubos de papaya. Los datos revelan que la aplicación de recubrimientos comestibles con quitosano o mezcla de quitosano + Aloe vera (90:10) retardan la pérdida de agua, mantiene el contenido de sólidos solubles y acidez titulable, disminuye el índice de deterioro e inhibe el crecimiento de microorganismos, extendiendo la vida útil a 12 días en comparación con el control que registró una vida útil de 8 días.

Palabras clave: Aloe vera, recubrimiento comestible, quitosano, papaya.

ABSTRACT

Minimal processing such as cutting induces to damages in papaya; therefore it is necessary to use techniques of food preservation, such as the use of edible films, in order to increase papaya's shelf life. The present work studied the use of edible films in fresh-cut papaya. The edible films were composed of mixtures of chitosan and Aloe vera in the following rates: Aloe vera 100%, chitosan + Aloe vera (50:50), chitosan + Aloe vera (75:25), chitosan + Aloe vera (90:10) y chitosan 100%. Weight loss, fruit injury, microbiological analyses, titratable acidity, pH and soluble solids were analyzed in papaya cubes stored at 4 °C for 12 days. The results showed that edible films composed of chitosan and a mixture of chitosan + Aloe vera (90:10) reduce weight loss, skin injury, microbiological grow, keep unchanged soluble solids and titratable acidity, increasing the shelf life to 12 days in comparison with the control which showed a shelf life of 8 days only.

Keywords: Aloe vera, edible film, chitosan, papaya



1. INTRODUCCIÓN

La demanda de frutas mínimamente procesadas presenta un aumento considerable por parte de los consumidores debido al cambio de las nuevas tendencias alimenticias por consumir alimentos sanos y funcionales. Los frutos y vegetales frescos cortados son productos que están parcialmente preparados, de tal forma que no se necesita una preparación adicional para su consumo (Watada A. E. y Qi L., 1999). Sus formas varían ampliamente, dependiendo de la naturaleza del fruto entero y de cómo se consume normalmente. Es importante que tengan un carácter fresco, a pesar del daño celular que sufren este tipo de productos durante el cortado (Huxsoll C. C. y Bolin H. R., 1989). La papaya variedad "Maradol", al ser una fruta muy grande, no es conveniente para su uso individual o consumo personal. Por lo tanto, la papaya "Maradol" es un buen candidato para consumirse como fruta mínimamente procesada o como papaya fresca cortada.

Los factores más importantes en papaya fresca son textura y apariencia general, el desarrollo microbiológico no parece contribuir a la descomposición. Adicionalmente no parecen sufrir daño por frío, en su forma cortada, cuando se almacenan a 4 °C (O'Connor-Shaw R. E., et al., 1994). La papaya fresca cortada tampoco tiene serios problemas de oscurecimiento, aunque recientemente se reportó que la actividad de polifenoloxidasas estaba relacionada con el deterioro de papaya "Sunrise" entera (Cano M. P., et al., 1996).

El quitosano (polímero de β-1, 4-glucosamina) es un componente de la pared celular de los crustáceos, forma películas semipermeables a gases y vapor de agua, y ha recibido atención en los últimos años por su potencial como recubrimiento comestible. Su aplicación como recubrimiento disminuye la pérdida de peso y mejora la calidad de frutos y hortalizas. Específicamente, su aplicación en cítricos ha mostrado resultados positivos sobre pérdida de peso y firmeza (Chien P. J., et al., 2007). Asimismo, hay un efecto antifúngico del quitosano y derivados en fresa, mango y melocotón (Li H. y Yu T., 2001; Srinivasa P. C., et al., 2002; Vargas M., et al., 2006).

El quitosano es un compuesto que presenta características biofuncionales, por lo que podría ser una alternativa viable para sustituir los métodos de control de microorganismos tradicionales.

Además, puede utilizarse sin problemas para elaborar recubrimientos comestibles (González G. A., et al., 2004; Zhang D. L. y Quantick P. C., 1998).

Chien et al. (2007), mostraron que al aplicar quitosano al 2 % como recubrimiento para frutos de mango, se observó que al término del almacenamiento no hubo presencia de microorganismo patógeno alguno. Aunque en la investigación realizada por Robson et al. (2008)

no se señala el género y la especie de los patógenos controlados, se observó que la aplicación de cubiertas de agar con quitosano y ácido acético en ajos (*Allium sativum* L.), produjo 20 % menos infección que en los no tratados.

El aloe vera es una planta de gran interés medicinal utilizada como tal desde hace más de 3000 años. De alrededor de 300 especies de aloe, se ha demostrado científicamente que son cuatro tipos los que presentan mayores propiedades medicinales, *Aloe barbadensis* Miller, *Aloe pernyi* Baker, *Aloe ferox* y *Aloe arborescens*. No obstante, el *Aloe barbadensis* Miller es considerada como la más utilizada en la medicina curativa y la más popular en el mundo entero, llamada comúnmente Aloe vera (Atherton P., 1998; Urch D., 1999). Chauhan et al. (2011) demostraron que recubrimientos a base de aloe vera redujeron la tasa de respiración, la producción de etileno, las pérdidas de peso y de firmeza en trozos de manzana.

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto y las características físico-químicas de conservación de los recubrimientos comestibles a base de quitosano y un extracto de *Aloe barbadensis* Miller en papaya cortada almacenada a 4 °C.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El quitosano utilizado fue donado por el Departamento de Tecnología de Alimentos de la Universidad Pública de Navarra (Pamplona, España). Los frutos de papaya (*Carica papaya* L. cv "Maradol") fueron obtenidos de un supermercado de la ciudad de Manta, Ecuador. Al momento de la compra de la fruta se verificó que esta tuviese un grado de madurez entre tres y cuatro (Santamaría F., et al., 2009). Los frutos una vez adquiridos fueron transportados al laboratorio de análisis, allí fueron clasificados por su tamaño, firmeza, madurez, descartándose aquellos frutos que presentaban ligeros daños físicos o síntomas de deterioro.

Una vez seleccionados, los frutos se lavaron con agua clorada 200 ppm durante dos min. Se enjuagó las frutas con agua potable y se las dejó secar al ambiente (26 °C). Posteriormente, se eliminó la cáscara manualmente con cuchillo, luego de lo cual se realizó el corte en cubos de 2 x 2 x 2 cm.

Con el objeto de mantener la apariencia general de la fruta y reducir los daños en el tejido de la misma, así como la pérdida de peso, se emplearon cuchillos afilados y buenas prácticas de manipulación del producto. Los trozos de papaya obtenidos se colocaron en bandejas de polipropileno de 0.5 L de capacidad, cada una con aproximadamente 34 g de muestra. Las bandejas se dividieron en seis lotes con sus respectivas codificaciones correspondientes a cada tratamiento del estudio (Tabla 1), obteniéndose un total de ciento ocho bandejas.

Tabla 1. Composición de los seis tratamientos empleados para el recubrimiento de papaya cortada

Tratamiento	Composición
Control	Ningún tratamiento
Quitosano	Solución de quitosano al 1% (p/v) en una solución acuosa con ácido acético 1% (v/v).
Áloe vera	Gel de áloe vera.
Q+A (50%:50%)	Mezcla de solución de quitosano al 1% (p/v) y gel de áloe vera en volúmenes iguales.
Q+A (90%:10%)	Nueve volúmenes de solución de quitosano al 1% (p/v) y un volumen de gel áloe vera.
Q+A (75%:25%)	Siete volúmenes y medio de solución de quitosano 1% (p/v) y dos volúmenes y medio de gel de áloe vera.

Posteriormente se separaron las bandejas en sus respectivos lotes, y se procedió a sumergir los trozos de papaya en las soluciones de recubrimiento correspondientes a cada tratamiento por un tiempo de 2 min. Luego de ello se dejó escurrir el exceso de la solución por 1 min haciendo uso de un tamiz de abertura aproximada a 1 mm. Luego, los trozos de fruta se colocaron en las respectivas bandejas y se secaron por 30 min a 20 °C. Las bandejas fueron envueltas con plástico y se almacenaron a 4 °C durante 12 días. Con intervalos de dos días, se tomaron al azar tres bandejas del control y tres de cada tratamiento para realizar los respectivos análisis de la fruta.

2.1 Preparación de las soluciones

La solución de quitosano al 1% (p/v) se preparó en una solución acuosa de ácido acético al 1% (v/v) haciendo uso de un agitador magnético a 1500 rpm por un tiempo de 30 min. Para la preparación de la solución de áloe vera se cortaron los bordes de la hoja y se extrajo el gel de la misma, el cual se homogenizó en una licuadora. La solución obtenida se filtró haciendo uso de un tamiz de abertura aproximada a 1 mm.

2.2 Índice de deterioro

Tres bandejas de cada tratamiento se evaluaron individualmente en los días 0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 de almacenamiento para detectar signos de deterioro. Se utilizó una escala hedónica, donde 1 = ningún, correspondió a que no hubo indicios de deterioro, 2 = presencia, 3 = ligeramente, 4 = moderada, 5 = grave y 6 = muy grave. Los resultados se expresaron como el Índice de Deterioro (ID), usando la Ecuación 1 (O'Connor-Shaw R. E., et al., 1994):

$$ID = \frac{(1 \cdot n + 2 \cdot n + 3 \cdot n + 4 \cdot n + 5 \cdot n + 6 \cdot n + 7 \cdot n)}{N}$$

Ecuación 1

Donde:

n: es el número de muestras clasificadas en cualquier nivel de la escala hedónica,
N: es el número total de muestras analizadas, para cada día de muestreo.

2.3 Pérdida de peso (PP)

Para la pérdida de peso se registró el peso inicial así como el peso de las muestras durante todo el período de almacenamiento. Los resultados se reportaron como porcentaje de pérdida de peso (PP), en cada día de muestreo, utilizando la Ecuación 2:

$$PP = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

Ecuación 2

Donde:

Pi: peso inicial de la muestra (g),
Pf: peso de la muestra final (g).

2.4 Firmeza

Para la medición de la firmeza se eligieron 3 muestras por tratamiento con tres repeticiones para cada uno. El análisis de textura se realizó a temperatura ambiente (26 °C) mediante análisis de penetración con un Texturómetro SHIMADZU (Modelo EZ-LX, Japón). Para el análisis se empleó una sonda de 3 mm de diámetro y 8 cm de longitud. La sonda se desplazó a una velocidad de 20 mm/s con una penetración de 10 mm en la muestra. El resultado obtenido fue la fuerza de penetración, medida en Newton (N).

2.5 Medición de cantidades de sólidos solubles y acidez titulable

Una muestra de papaya de aproximadamente 25 g se desintegró utilizando una licuadora doméstica. El jugo obtenido se filtró en tela de lienzo. El material filtrado se recogió y se analizó los sólidos solubles mediante un refractómetro manual (Atago, Japón) de acuerdo al método 920.151 de la AOAC (2005a). Los resultados se reportaron como °Brix. La acidez titulable se determinó por valoración con solución 0.1 M de NaOH y los resultados se expresaron como porcentaje de ácido cítrico, de acuerdo al método 942.15 de la AOAC (AOAC, 2005b).

2.6 Recuentos microbiológicos

Los recuentos microbiológicos se realizaron los días 0, 4, 8, y 12 del período de almacenamiento. Se usaron 10 g de muestra, los cuales se introdujeron en un matraz y se mezclaron con 90 ml de solución fisiológica (agua destilada más cloruro de potasio con 0.85 % de concentración).

La solución se homogenizó durante 2 min. Posteriormente se realizó una dilución de la solución madre con el fin de obtener un conteo más claro y preciso de las colonias, para luego inocular las placas por el método de vertido utilizando 1 ml de inóculo e incubando las muestras a 27 °C.

Para el sembrado y conteo de levaduras y hongos mesófilos se usó como medio de cultivo DRBC (Agar Rosa Bengala + Cloranfenicol + Dicloran), mientras que para el sembrado y conteo de bacterias mesófilas se usó como medio de cultivo Difco Nutrient Agar.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Pérdida de peso

Los trozos de papaya recubiertos con mezclas compuestas mayoritariamente por quitosano conjuntamente con la de quitosano solo presentaron menores pérdidas de peso ($P < 0.05$) que el control (muestras sin recubrimiento) al final del día 12 de almacenamiento a 4 °C (Figura 1). La pérdida de peso resultante de la deshidratación del producto, se acelera por el proceso de pelado y cortado de la fruta (Brecht J., 1995). A ello se suma la pérdida de agua durante el proceso de respiración relacionada a procesos metabólicos durante el almacenamiento (Izumi H., et al., 1996; Watada A. E. y Qi L., 1999). En base a lo anotado anteriormente, la reducción en pérdida de peso puede deberse a la barrera que forma el recubrimiento, reduciendo así la transferencia de agua así como la de gases.

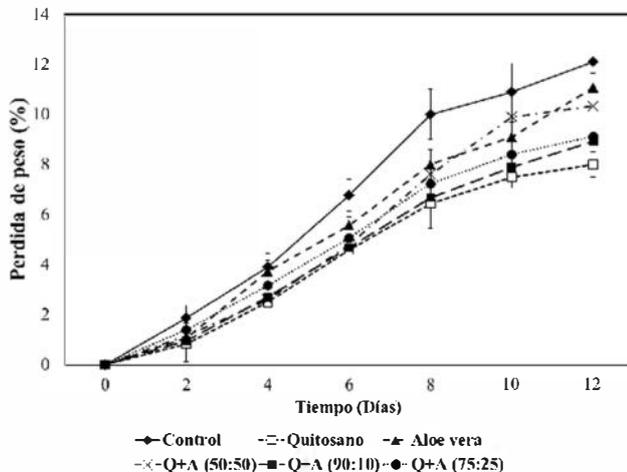


Figura 1. Pérdida de peso de trozos de papaya cv. "Maradol" recubiertos con quitosano y áloe vera, almacenados durante 12 días a 4 °C.

3.2 Acidez titulable

Los valores de acidez no presentaron variación a lo largo del almacenamiento, tanto para el control como para las papayas recubiertas con las diferentes mezclas (datos no reportados). Resultados similares fueron obtenidos por Brasil et al. (2012) para trozos de papaya recubierta con una mezcla de quitosano y pectina. Techavuthiporn, Nakano y Maezawa (Techavuthiporn C., et al., 2008) encontraron que la concentración de ácido ascórbico disminuye con la acumulación de dióxido de carbono. Por lo tanto, los recubrimientos al reducir la tasa de respiración mantienen la concentración de ácido ascórbico.

3.3 pH

Los valores de pH no variaron significativamente a lo largo del tiempo de almacenamiento (Figura 2). Similares resultados fueron obtenidos para papaya cortada empacada con polietileno y poliestireno y almacenada en condiciones de refrigeración por un período de 12 días (Turkey B., et al., 2014). En el presente estudio se observó que los trozos de papaya tratados con quitosano tuvieron un aumento de pH de un valor de 4.6 para el día 0 a un pH de 5.1 para el día 12 del período de almacenamiento. Los trozos de papaya que recibieron otros tratamientos conjuntamente con el control presentaron por el contrario una disminución en el pH.

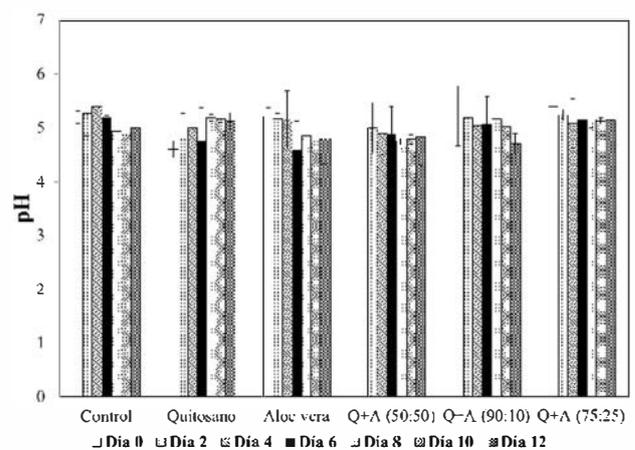


Figura 2. Efecto del quitosano y áloe vera en el pH de trozos de papaya cv. "Maradol" almacenados durante 12 días a 4 °C.

3.4 Sólidos solubles totales

Todos los tratamientos conjuntamente con el control presentaron una disminución inicial en el contenido de sólidos solubles totales (SST) entre los días 2 y 4 días de almacenamiento, seguida de un incremento (Figura 3). Los cambios en SST fueron significativos a lo largo de los 12 días de almacenamiento ($P < 0.05$). Los trozos de papaya tratados con Q+A (75%:25%) conjuntamente con los tratados solamente con Áloe vera presentaron el contenido de SST más bajo después de 12 días de almacenamiento. La disminución inicial pudo deberse a un mayor consumo de los azúcares provocado por un aumento en la actividad respiratoria de la fruta cortada (Ayala-Zavala J. F., et al., 2004; Chan H. T., 1979; Lamikanra R., et al., 2000). El incremento posterior en SST posiblemente se debe a un efecto de concentración de los sólidos solubles provocado por una mayor influencia de la pérdida de agua a partir del día 4 de almacenamiento.

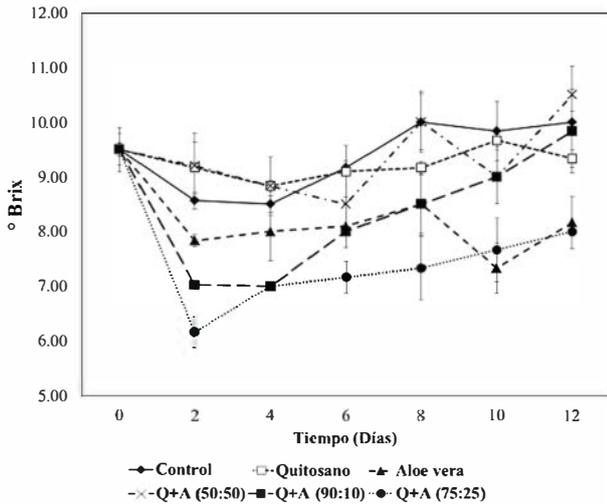


Figura 3. Contenido de sólidos solubles (°Brix) en trozos de papaya cv. "Maradol" recubiertos con quitosano y áloe vera, almacenados durante 12 días a 4 °C.

3.5 Índice de deterioro

Los trozos de papaya sin tratamiento almacenados a 4 °C tuvieron una vida útil de tan sólo 8 días (Figura 4). Los trozos de papaya tratados con Q+A (90 %:10 %) presentaron un buen índice de calidad general durante los 12 días de almacenamiento. La reducción en el índice de calidad general estuvo relacionada positivamente con la pérdida de textura y peso. En estudios previos se observó que la vida de anaquel para papaya fresca cortada cv. "Formosa" fue de 7 días después de ser almacenada a 3, 6 y 9 °C (Texeira G. H., et al., 2001). O'Connor-Shaw et al. (1994) reportaron sólo 2 días de vida de anaquel para papaya fresca cortada en cubos, sin embargo en dicho estudio no se menciona el cultivar utilizado. De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio, parece ser que el cv "Maradol" podría utilizarse como un producto fresco cortado con recubrimiento comestible para el consumo diario.

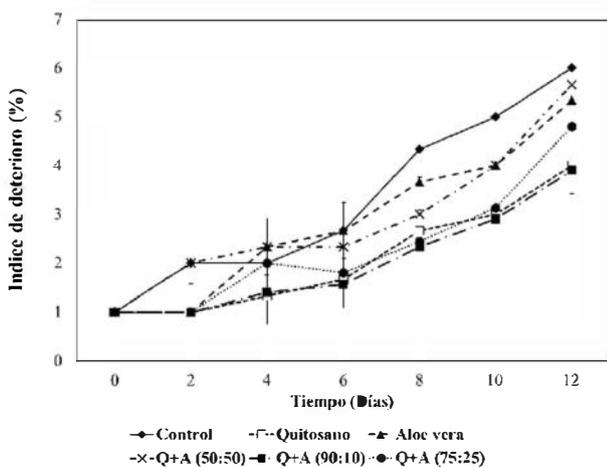


Figura 4. Índice de deterioro de trozos de papaya cv. "Maradol" recubiertos con quitosano y áloe vera, almacenados durante 12 días a 4 °C

3.6 Firmeza

La Figura 5 muestra que el perfil de la fuerza de penetración se mantuvo en un rango entre 0.2 y 0.8 N para todos los tratamientos al tiempo 0 (Figura 5A), mientras que estuvo entre 0.2 y 0.6 N para todos los tratamientos luego de 12 días de almacenamiento a 4 °C (Figura 5C). El perfil de la curva a tiempo cero no mostró un pico claro de firmeza y más bien se observó una curva asintótica. Por el contrario, las curvas al día seis y doce mostraron un pico claro para todos, excepto la muestra recubierta con áloe vera (Figuras 5B y 5C). La pérdida de firmeza observada entre el día cero y 12 de almacenamiento fue más notoria en los trozos del control que pasaron de un valor firmeza de 0.78 N en promedio, para el día cero, a un valor de 0.25 N para el día 12. Los tratamientos que presentaron mayor firmeza fueron los trozos de papaya tratados con Quitosano al 100 % que pasaron de un valor de 0.78 N en promedio, para el día 0, a un valor de 1.9 N para el día 12, y los trozos de papaya tratados con el Q+A (90 %:10 %) que pasaron de un valor de 0.6 N en promedio para el día 0, a un valor de 0.5 N para el día 12.

Cabe recalcar el incremento en firmeza registrado para la muestra recubierta con Quitosano luego de 12 días de almacenamiento. Firmeza que no fue registrada para ningún otro tratamiento. Es sabido que la pérdida de textura por efecto de la temperatura y el tiempo de almacenamiento, es debida a la hidrólisis de los componentes de la pared celular (Agar I. T., et al., 1999; Hardenburg R. E., et al., 1990; Watada A. E., et al., 1990) tales como la pectina por acción de enzimas como la pectinesterasa (Monroy-García I. N., 2004). Dicha enzima se encuentra en las plantas así como en las bacterias y los hongos. Es posible que la acción del quitosano sobre los microorganismos presentes en la fruta pudiera reducir la formación de pectinesterasa y con ello mantener o reducir la disminución de firmeza de la fruta.

3.7 Recuento microbiológico

La Tabla 2 muestra la inhibición de mesófilos aerobios en trozos de papaya. Los resultados muestran la reducción de las unidades formadoras de colonias (log UFC g⁻¹) para las papayas tratadas con recubrimientos compuestos mayoritariamente o únicamente por quitosano.

La reducción más alta (2 órdenes logarítmicos) se evidenció en los trozos de papaya tratados con quitosano, seguida de los tratamientos Q+A (90 %:10 %) y Q+A (75 %:25 %). A medida que va subiendo la concentración de quitosano se presenta una inhibición más alta de mesófilos.

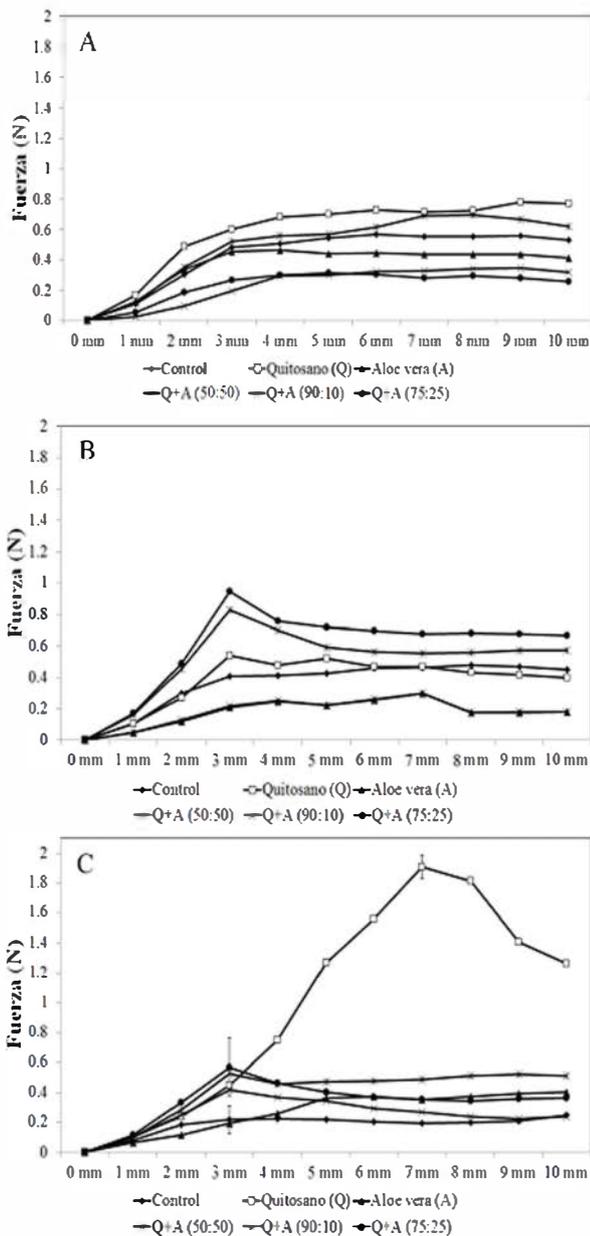


Figura 5. Perfil de fuerza de penetración en trozos de papaya cv. "Maradol" recubiertos con quitosano y áloe vera almacenados a 4 °C durante 0 días (A), 6 días (B), 12 días (C).

El alto índice de crecimiento de aerobios mesófilos en los trozos tratados con áloe vera se puede atribuir a la alta carga microbiana que se encuentra presente en las hojas de áloe al estar en contacto con la superficie del suelo al momento de ser recolectada la hoja. Hay que mencionar que la concentración de mesófilos aerobios presentes en los trozos de papaya tratados con recubrimientos almacenados a 4 °C durante 12 días no excedió el límite de $7.69 \log \text{ UFC g}^{-1}$ declarado por la Comisión Francesa para la evaluación de la calidad microbiológica de los alimentos, especialmente para las frutas frescas cortadas (CNERNA-CNRS, 1996).

En lo que respecta a mohos y levaduras, solo se observó disminución en las unidades formadoras de colonias para el tratamiento con quitosano y Q+A (90 %:10 %) (Tabla 3).

Tabla 2. Composición de los seis tratamientos empleados para el recubrimiento de papaya cortada

	Día 0 (log UFC g ⁻¹)	Día 4 (log UFC g ⁻¹)	Día 8 (log UFC g ⁻¹)	Día 12 (log UFC g ⁻¹)
Control	3.2	3.9	4.2	5.0
Quitosano	3.2	1.5	1.0	1.0
Áloe vera	3.2	4.2	4.6	5.3
Q+A (50%:50%)	3.2	3.5	4.0	4.5
Q+A (90%:10%)	3.2	1.7	1.3	1.2
Q+A (75%:25%)	3.2	2.1	1.9	1.8

Tabla 3. Recuento de mohos y levaduras en placas de papaya cortada, tratadas con quitosano y áloe vera almacenados durante 12 días a 4 °C

	Día 0 (log UFC g ⁻¹)	Día 4 (log UFC g ⁻¹)	Día 8 (log UFC g ⁻¹)	Día 12 (log UFC g ⁻¹)
Control	2.0	3.8	5.0	8.0
Quitosano	2.0	1.0	0.0	0.0
Áloe vera	2.0	4.2	4.6	5.3
Q+A (50%:50%)	2.0	3.0	4.0	4.5
Q+A (90%:10%)	2.0	2.0	1.0	1.0
Q+A (75%:25%)	2.0	3.0	3.4	4.0

4. CONCLUSIONES

Los trozos de papaya tratados con quitosano conservaron las cantidades de sólidos solubles, presentaron menor pérdida de peso e índice de deterioro, y mantuvieron una firmeza mayor en relación al control. En cuanto a los análisis microbiológicos mostraron una inhibición mayor de aerobios mesófilos, mohos y levaduras en comparación al control. Este estudio muestra que los recubrimientos de quitosano aplicados en trozos de papaya alargaron el periodo de vida útil por un tiempo estimado de 4 días en relación con trozos de papaya sin recubrimiento. Los resultados obtenidos en este estudio podrían ser de gran utilidad para los productores y comercializadores de papaya, ya que se presenta una nueva opción para contrarrestar las pérdidas postcosecha de la papaya, ofreciendo una alternativa de comercialización de un producto de valor agregado y contribuyendo de esta forma con el cambio de la matriz productiva en nuestro país. Se recomienda la realización de estudios similares en otras frutas tanto enteras como procesadas.

AGRADECIMIENTOS

El Dr. Khalid Ziani agradece al programa Proyecto Prometeo de la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT) por el apoyo financiero brindado.

REFERENCIAS

- Agar I. T., Massantini R., Hess-Pierce B., y Kader A. A. (1999). Postharvest CO₂ and ethylene production and quality maintenance of fresh-cut kiwifruit slices. *Journal of Food Science*, 64(3), 433-440.
- AOAC. (2005a). AOAC Official Method 920.151: Solids (Total) in Fruits and Fruit Products. Gravimetric Method. (pp. 1). : AOAC INTERNATIONAL.
- AOAC. (2005b). AOAC Official Method 942.15: Acidity (Titratable) of Fruit Products. Part A: Indicator Method. (pp. 1). : AOAC INTERNATIONAL.
- Atherton P. (1998). *First Aid Plant. Chemistry in Britain*, 34(5), 33-36.
- Ayala-Zavala J. F., Wang S. Y., Wang C.Y., y González-Aguilar G. A. (2004). Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *LWT-Food Science and Technology*, 37, 687-695.
- Brasil I.M., Gomes C., Puerta-Gomez A., Castell-Perez M. E., y Moreira R. G. (2012). Polysaccharide-based multilayered antimicrobial edible coating enhances quality of fresh-cut papaya. *LWT-Food Science and Technology*, 47, 39-45.
- Brecht J. (1995). *Physiology of Lightly Processed Fruits and Vegetables*. *Hortscience*, 30(1), 18-22.
- Cano M. P., Lobo M. G., De Ancos B., y Galeazzi M. A. (1996). Polyphenol oxidase from spanish hermaphrodite and female papaya fruits (Carica papaya, cv. Sunrise, Solo group). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 3075-3079.
- CNERNA-CNRS. (1996). *Produits de la IVeme gamme*. In Jouve J. L. (Ed.), *La qualité microbiologique des aliments (maitrise et criteres)* (2^a Ed. ed.). Paris (Francia): Ed. Polytechnica.
- Chan H. T. (1979). Sugar composition of papayas during fruit development. *Horticultural Science*, 14(2), 140-141.
- Chauhan O. P., Raju P. S., Singh A., y Bawa A. S. (2011). Shellac and aloe-gel-based sur-face coatings for maintaining keeping quality of apple slices. *Food Chemistry*, 126, 961-966.
- Chien P. J., Sheu F., y Yang F. H. (2007). Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *Journal of Food Engineering*, 78, 225-229.
- González G. A., Ayala J. F., Ruiz Acedo S., y Díaz M. E. (2004). Effect of temperature and modified atmosphere packaging on overall quality of fresh-cut bell peppers. *LWT - Food Science and Technology*, 37, 817-826.
- Hardenburg R. E., Watada A. E., y Yang C. Y. (1990). *The commercial storage of fruits, vegetables and florist and nursery stocks*. (Vol. 66). Washington (USA): U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service.
- Huxsoll C. C., y Bolin H. R. (1989). Processing and distribution alternatives for minimally processed fruits and vegetables. *Food Technology*, 43(2), 124-128.
- Izumi H., Watada A. E., Ko N. P., y Douglas W. (1996). Controlled atmosphere storage of carrot slices, sticks and shreds. *Postharvest Biology and Technology*, 9, 165-172.
- Lamikanra R., Chen J. C., Banks D., y Hunter P. A. (2000). Biochemical and microbial changes during the storage of minimally processed cantaloupe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(12), 5955-5961.
- Li H., y Yu T. (2001). Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(2), 269-274.
- Monroy-García I. N. (2004). *Uso de cubiertas comestibles de quitosano para mantener la calidad de papaya fresca cortada*. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo - CIAD A.C., Mexico DC (Mexico).
- O'Connor-Shaw R. E., Roberts R., Ford A. L., y Nottingham S. M. (1994). Shelf life of minimally processed honeydew, kiwifruit, papaya, pineapple and cantaloupe. *Journal of Food Science*, 59(6), 1202-1206, 1215.
- Robson M. G., Nilda F. S., Alvarenga D., y Almeida L. (2008). Characterization and effect of edible coatings on minimally processed garlic quality. *Carbohydrate Polymers*, 72(3), 403-409.
- Santamaría F., Duch E., Espadas F., Díaz R., Larqué A., y Santamaría J. (2009). Postharvest ripening and maturity indices for maradol papaya. *Interciencia*, 34(8), 583-588.
- Srinivasa P. C., Baskaran R., Ramesh M. N., Prashanth K. V., y Tharanathan R. N. (2002). Storage studies of mango packed using biodegradable chitosan film. *European Food Research and Technology*, 215, 504-508.

Techavuthiporn C., Nakano K., y Maezawa S. (2008). Prediction of ascorbic acid content in broccoli using a model equation of respiration. *Postharvest Biology and Technology*, 47, 373-381.

Texeira G. H., Durigan J. F., Mattiuz B., y Rossi O. D. (2001). Processamento mínimo de mamão "Formosa". *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 21(1), 47-50.

Tirkey B., Pal U., Bal L. M., Sahoo N. R., Bakhara C. K., y Panda M. K. (2014). Evaluation of physico-chemical changes of fresh-cut unripe papaya during storage. *Food packaging and shelf life*, 1(2), 190-197.

Urch D. (1999). *Aloe Vera-Nature's Gift*. Bristol (UK): Blackdown Publications.

Vargas M., Albors A., Chiralt A., y González-Martínez C. (2006). Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 41, 164-171.

Watada A. E., Abe K., y Yamauchi N. (1990). Physiological activities of partially processed fruits and vegetables. *Food Technology*, 44(5), 116-122.

Watada A. E., y Qi L. (1999). Quality of fresh-cut produce. *Postharvest Biology and Technology*, 15, 201-205.

Zhang D. L., y Quantick P. C. (1998). Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 73, 763-767.

CARACTERIZACIÓN FISIQUÍMICA Y FUNCIONAL DE SEIS FRUTAS TROPICALES Y ANDINAS ECUATORIANAS

PHYSICO-CHEMISTRY AND FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF SIX TROPICAL AND ANDEAN ECUATORIAN FRUITS

W. Llerena^{1,2}, I. Samaniego¹, M. Ramos², B. Brito¹

¹Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Departamento de Nutrición y Calidad, Panamericana Sur Km. 1, Mejía, Ecuador.

²Universidad Técnica de Ambato (UTA), Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Av. Los Chasquis y Río Payamino, Ambato, Ecuador.

Artículo recibido: 22/10/14

Artículo aceptado: 10/11/14

RESUMEN

Ecuador es un país que por su ubicación geográfica presenta una diversidad de microclimas y suelos con características favorables, que le permiten cultivar un sinnúmero de frutas tanto en clima cálido, templado y frío. El presente estudio se realizó con la finalidad de contar con un análisis completo del perfil de antioxidantes; así como las características fisicoquímicas de seis frutas exóticas ecuatorianas. El trabajo se realizó en tres fases: caracterización fisicoquímica, preparación de muestras y cuantificación de compuestos antioxidantes. Dentro de la caracterización físico-química se obtuvo un peso promedio de 0,21 g/fruto (mortiño) a 138,36 g/fruto (arazá); una longitud de 0,71 cm (mortiño) a 6,92 cm (tomate de árbol); un diámetro de 0,69 cm (mortiño) a 7,01 cm (arazá) y una firmeza de 0,69 N (mortiño) a 55,80 N (tomate de árbol). En la caracterización química se obtuvieron valores de pH entre 2,83 (arazá) y 3,75 (tomate de árbol y uvilla); acidez titulable de 0,96 % (mortiño) a 2,81% (mora); un contenido de humedad de 81,26 % (uvilla) a 95,36 % (arazá) y un contenido de sólidos solubles de 3,83 °Brix (arazá) a 13,73 °Brix (uvilla). El perfil de compuestos antioxidantes se evaluó en muestras liofilizadas, determinándose que frutas como el mortiño y mora son ricas en antocianinas con una concentración promedio de 2682,30 y 1416,68 mg de cloruro de cianidina 3-glucósido/100 g, respectivamente. Los carotenoides fueron identificados en tomate de árbol, uvilla, arazá y naranjilla (123,18; 65,21; 62,85 y 57,93 µg de β-caroteno/g, respectivamente). Los polifenoles fueron identificados en todas las muestras con valores de 7254,62; 6352,28; 3507,79; 1062,77; 897,58 y 259,93 mg de ácido gálico/100 g para mortiño, mora, arazá, tomate de árbol, naranjilla y uvilla; respectivamente. El arazá es el fruto con el mayor contenido de vitamina C (427,74 mg de ácido ascórbico/ 100 g), seguido por naranjilla, tomate de árbol, uvilla, mora y mortiño.

Palabras clave: Caracterización fisicoquímica, antioxidantes, frutas tropicales, frutas andinas.

ABSTRACT

Ecuador is a country whose geographical location presents a variety of microclimates and soils with favorable characteristics, which allows growing a number of fruits in both warm and cold temperate climates. The present study was performed in order to have a complete antioxidant profile analysis and the physicochemical characteristics of six Ecuadorian exotic fruits. The work was conducted in three phases: physicochemical characterization, sample preparation and quantification of antioxidant compounds. Within the physical characterization was found an average weight of 0.21 (blueberry) to 138.36 g (arazá); a length of 0.71 (blueberry) to 6.92 cm (tree-tomato); a diameter of 0.69 (blueberry) to 7.01 cm (arazá), and a stability of 0.69 (blueberry) to 5.69 N (tree-tomato). Within the chemical characterization of pH values between 2.83 (arazá) and 3.75 (tree-tomato and cape gooseberry) was obtained; titratable acidity from 0.96 (blueberry) to 2.81% (blackberry); a moisture content of 81.26 (cape gooseberry) to 95.36 % (arazá), and a soluble solids content of from 3.83 (arazá) to 13.73 °Brix (cape gooseberry). The profile of antioxidant compounds evaluated in lyophilized samples determined that fruits like blackberry and blueberry are rich in anthocyanins with an average concentration of 2682.30 and 1416.68 mg of chloride, cyanidin 3-glucoside/100 g, respectively. Carotenoids were identified in tree-tomato, cape gooseberry, arazá and naranjilla (123.18, 65.21, 62.85 and 57.93 g of β-carotene /g, respectively). Polyphenols were identified in all samples with values 7254.62, 6352.28, 3507.79, 1062.77, 897.58 and 259.93 mg of gallic acid/100 g for blueberry, blackberry, arazá, tree-tomato, cape gooseberry and naranjilla; respectively. Arazá is the fruit with the highest content of vitamin C (ascorbic acid 427.74 mg/100 g), followed by naranjilla, tree-tomato, cape gooseberry, blackberry and blueberry.

Keywords: Physicochemical characterization, antioxidants, tropical fruits, Andean fruits.

*Autor de correspondencia: Wilma Llerena. Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.
E-mail: llerena.wilma@gmail.com; Tel: +593 (0)2400987; Fax: +593(0)2400998.

1. INTRODUCCIÓN

Ecuador es un país que por su ubicación geográfica cuenta con un gran número de microclimas con características favorables de suelo que le permiten cultivar un sinnúmero de frutas tanto en clima cálido, templado y frío.

El arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh) es un frutal nativo de la Amazonía perteneciente a la familia de las Mirtáceas, también es conocido como membrillo o guayaba amazónica (López et al., 2010). Se produce en toda la región amazónica del Ecuador: en la zona norte (Cáscales, Lago Agrio, Shushufindi, Sacha, Coca, Loreto), centro (Archidona, Tena, Mera, Puyo, Palora, Macas, Sucúa, Logroño, Méndez, Gualaquiza) y sur (Yantzaza, El Bangui, Nangaritza y Centinela del Cóndor). El fruto del arazá es más adecuado para el procesamiento y/o industrialización; difícilmente se lo consume en fresco por su elevada acidez. (López J. et al., 2010).

La variedad sin espinas de mora (*Rubus glaucus* Benth) INIAP Andimora 2013 (accesión MA-0100) proviene de una mutación somática natural de plantas de mora de Castilla con espinas, empleadas para la multiplicación vegetativa por acodo terminal.

El INIAP, a través del Programa Nacional de Fruticultura (PNF) y el apoyo de los Departamentos de Nutrición y Calidad, Biotecnología y Recursos Filogenéticos de la Estación Experimental Santa Catalina, a partir del 2008 inició una serie de investigaciones relacionadas con la caracterización agronómica, molecular, fisicoquímica y de calidad de una colección de moras. Luego de varios años de investigación se seleccionó una nueva variedad (colectada en Tisaleo, Tungurahua) que se caracteriza por no poseer espinas, mayor productividad, frutos de calidad y resistencia a las principales enfermedades que afectan a este cultivo. Estas plantas fueron multiplicadas y distribuidas en tres localidades de la provincia de Tungurahua, entre 2810 y 2950 msnm y temperaturas de 12 a 14°C; encontrando las primeras producciones con buenas perspectivas (Jaramillo V., 2013).

El mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) es un arbusto perenne, delgado y pequeño. Considerado en la actualidad como especie endémica, ha permanecido de manera silvestre en los páramos del Ecuador; al ser el páramo un ecosistema muy sensible, esta especie se encuentra en peligro de extinción (Rodríguez H. et al., 2007).

Crece en los páramos de forma silvestre a una altitud de 1400 a 4350 msnm (Tupuna D., 2012); esta baya florece dos veces al año, pero debido a la expansión de las áreas agrícolas se ha limitado a los páramos comprendidos entre 1800 a 3800 m.s.n.m. (Andrade J., 2012; Schotsmans W. et al., 2007).

La naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) es una especie de la familia de las Solanáceas, originaria de las estribaciones de los Andes de Ecuador y Colombia, presentando cierta variabilidad en forma, tamaño, sabor, color de la pulpa y piel (Orozco L., 2003)

El INIAP, a través del PNF, ha generado tecnologías que permiten generar materiales resistentes y prácticas de manejo agronómico integrado en base a varios cruzamientos interespecíficos entre la variedad de jugo y especies silvestres. Los resultados presentan frutos de calidad comercial en cuanto a tamaño, color de pulpa (verde) y aroma característico. La naranjilla de jugo INIAP Quitoense 2009, proviene de una selección de la variedad Baeza (2005-2007), que se ha venido mejorando mediante la selección de plantas considerando vigor, capacidad de cuajado, productividad y calidad fisicoquímica de los frutos (Viteri P. et al., 2009).

El tomate de árbol o tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.) pertenece a la familia de las Solanáceas, requiere precipitaciones pluviales de alrededor de 1200 mm; distribuidos regularmente todo el año. El fruto es una baya ovalada pequeña, carnosa, puntiaguda o redonda en el extremo, la cáscara es delgada y tersa. El color del fruto depende de la variedad: amarillo, anaranjado, rojo amarillento o rojo opaco. La pulpa es jugosa, agridulce y de color anaranjado claro. El material más cultivado es el Común, seguido por el Anaranjado Gigante y el híbrido Mora Ecuatoriano que es apreciado en la Costa. Se desconoce el origen del tomate Anaranjado Gigante que es muy cultivado en Tungurahua e Imbabura (Revelo J. et al., 2004). Las zonas aptas para el desarrollo de este cultivo se encuentran en los valles del callejón interandino (Altamirano M., 2010).

Esta planta, se caracteriza por producir su fruto envuelto en un cáliz protector; este fruto es semiácido, redondo, amarillo, dulce y pequeño (aproximadamente entre 1,25 y 2 cm de diámetro), conteniendo alrededor de 100 a 200 pequeñas semillas (Tapia M. E. y Fries A. M., 2007)

El objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar las características fisicoquímicas y funcionales de seis frutas tropicales y andinas ecuatorianas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material vegetal

Se trabajó con 6 genotipos de frutas tropicales y andinas en su estado de madurez comestible. Considerando 15 muestras por genotipo, se analizó un total de 90 muestras; cada muestra estuvo constituida de 5 kg de fruta. En la Tabla 1 se describe la identificación y procedencia de las variedades utilizadas dentro de este estudio.

Tabla 1. Identificación y procedencia del material vegetal seleccionado

FRUTA	NOMBRE CIENTÍFICO	IDENTIFICACIÓN	PROCEDECENCIA	
			CIUDAD	PROVINCIA
Arazi	<i>Eugenia stipitata</i> Mc Vaugh	Clones (001 y 003)	Joya de los Sachas	Orellana
Mora	<i>Rubus glaucus</i> Benth	Variedad INIAP Ardi mora 2013	Ambato	Tungurahua
Mortiño	<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth	Material nativo	Sigchos	Cotopaxi
			Salinas	Bolívar
Naranja	<i>Solanum quitoense</i> Lam.	Variedad INIAP Quitoense 2009	Machachi	Pichincha
			Noroccidente	Pichincha
Tomate de árbol	<i>Solanum betaceum</i> Cav.	Variedad Aranzajado Gigante	Patate	Tungurahua
			Peñe	Tungurahua
Uvilla	<i>Physalis peruviana</i> L.	Variedad Golden Keniana	Ambato	Tungurahua

2.2 Preparación de muestra

En las muestras provenientes de diferentes localidades se determinó la firmeza con la finalidad de seleccionar frutas con grado de madurez homogéneo. Las muestras seleccionadas fueron lavadas para eliminar la carga microbiana de la suciedad y materia orgánica adherida proveniente del campo. La fruta, previamente lavada, fue decorticada, licuada, tamizada y almacenada en fundas Ziploc a -18 °C protegidas del oxígeno y la luz.

2.3 Preparación de muestra para análisis de antioxidantes

Las muestras previamente congeladas (-18 °C) se sometieron a un proceso de secado mediante sublimación a presión reducida (liofilización), con el fin de reducir las pérdidas de los compuestos responsables del sabor, color y el aroma en los alimentos por oxidación. La liofilización se realizó con ayuda de un liofilizador Labconco modelo 1400 (tipo armario), a una temperatura de -40 °C y 0,13 mbar de presión.

2.3.1 Preparación de muestra

En las muestras provenientes de diferentes localidades se determinó la firmeza con la finalidad de seleccionar frutas con grado de madurez homogéneo.

Las muestras seleccionadas fueron lavadas para eliminar la carga microbiana de la suciedad y materia orgánica adherida proveniente del campo. La fruta, previamente lavada, fue decorticada, licuada, tamizada y almacenada en fundas Ziploc a -18 °C protegidas del oxígeno y la luz.

2.3.2 Preparación de muestra para análisis de antioxidantes

Las muestras previamente congeladas (-18 °C) se sometieron a un proceso de secado mediante sublimación a presión reducida (liofilización), con el fin de reducir las pérdidas de los compuestos responsables del sabor, color y el aroma en los alimentos por oxidación. La liofilización se realizó con ayuda de un liofilizador Labconco modelo 1400 (tipo armario), a una temperatura de -40 °C y 0,13 mbar de presión.

2.4 Caracterización física

La caracterización física de la fruta se realizó en el estado de madurez comestible. El peso de cada muestra se registró por gravimetría con ayuda de una balanza analítica Boeco (0,01-220 g). La longitud y el diámetro se determinaron utilizando un calibre Vernier o Pie de Rey digital marca Mitutoyo modelo WS5JK64, tomándose como referencia dos medidas, una horizontal y una vertical de cada muestra.

La firmeza (resistencia a la penetración) se determinó en newtons (N), con ayuda de dos penetrómetros Gullimex modelos FT011 y FT327 aplicando émbolos de diferente diámetro. Para arazá, naranjilla y tomate de árbol se usó el modelo FT327 con un émbolo cilíndrico de 6 mm de diámetro; en muestras de uvilla, mora y mortiño se empleó el modelo FT011 con un émbolo cilíndrico de 2 mm de diámetro.

El rendimiento se determinó tomando una muestra de peso conocido, se separó y pesó individualmente la corteza, semilla y pulpa. Con los datos obtenidos se calculó el porcentaje de rendimiento. Las determinaciones de peso se realizaron con una balanza UWE Checkweighes (0,1-2000 g) modelo DW-3000E.

2.5 Caracterización química

2.5.1 Acidez

La acidez se determinó tomando 30 g de muestra (pulpa) y se tituló con solución de NaOH 0,1 N. La titulación se finalizó cuando la muestra alcanzó un pH de 8,2 (momento en que ocurre el cambio de color del indicador de fenolftaleína) y el resultado se expresó como porcentaje del ácido orgánico predominante en la fruta. Los ácidos orgánicos predominantes en las frutas estudiadas son: el ácido málico (arazá y mora) y cítrico (mortiño, tomate de árbol, naranjilla y uvilla).

2.5.2 pH

El pH de las muestras se determinó con ayuda de un potenciómetro Hanna, modelo HI83141, por inmersión directa del bulbo del equipo en las pulpas estudiadas.

2.5.3 Sólidos solubles (°Brix)

Los sólidos solubles se midieron directamente en la pulpa de cada muestra con un refractómetro digital de bolsillo marca Atago modelo PAL (0-53°Brix). Los resultados medidos se expresan como °Brix (g sacarosa/100 g de muestra).

2.5.4 Humedad

El contenido de agua en la muestra se determinó por gravimetría, siguiendo el método 930.15 de la AOAC, adaptado por el Laboratorio de Servicios Analíticos e Investigación en Alimentos del Departamento de Nutrición y Calidad de la Estación Experimental Santa Catalina - INIAP. Para esto se pesaron 5 g de muestra y se secó con ayuda de una estufa Memmert a 105°C por 8 horas. Las ecuaciones 1 y 2, se emplearon para determinar el contenido de humedad en las muestras estudiadas.

$$MS = \left(\frac{P_2 - P_r}{P_1 - P_r} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

MS: Porcentaje de materia seca

P_r : Peso del recipiente

P_1 : Peso del recipiente más la muestra húmeda

P_2 : Peso del recipiente más la muestra seca

$$\%H = 100 - MS \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

%H: Porcentaje de humedad

MS: Materia seca

2.6 Cuantificación de compuestos antioxidantes

2.6.1 Determinación de Antocianinas

Las antocianinas son parte de los pigmentos presentes en las frutas; les confieren el color rojo, morado y azul. Estos compuestos bioactivos son susceptibles a los cambios de pH, de tal manera que a pH 1,0 se encuentran altamente coloreadas en su forma flavonoide (oxonio) y a pH 4,5 predominan en forma de carbinol (menos coloreado).

En base a este principio químico se aplicó el método diferencial de pH planteado por Rapisarda et al. (2000). El proceso de extracción se realizó con agitación magnética durante 60 minutos; para esto se tomaron 0,25 g de muestra liofilizada y se añadieron 10 ml de solución buffer (pH 1,0 ó 4,5). A partir del extracto ultracentrifugado (< 5000 rpm ó fuerza centrífuga relativa, FCR=979,13) del buffer pH 1,0 y pH 4,5 se tomó una alícuota de 1 ml y se prepararon soluciones 10^{-1} y 10^{-3} , respectivamente. Se midió la absorbancia de las muestras frente al blanco (soluciones buffer) a 510 nm y 700 nm con ayuda de un espectrofotómetro UV-VIS Shimadzu 2200. Las concentraciones calculadas por este método se reportaron en mg de cloruro de cianidina 3-glucósido (Cy-3-glu)/100 g de muestra seca.

2.6.2 Determinación del contenido de Carotenoides totales

Los carotenoides son pigmentos orgánicos que se encuentran de forma natural en las frutas. Su color varía desde amarillo pálido hasta anaranjado; esta variación se encuentra directamente relacionada con su estructura química. La determinación del contenido de carotenoides totales se realizó en ausencia de luz y oxígeno; empleando 0,6-1 g de muestra liofilizada. El proceso de extracción se realizó con 50 ml de solución extractora (50 % Hexano, 25 % Etanol, 25 % Acetona, v/v/v y 0,1% de Butilhidroxitolueno, BHT; p/v) y 5 g cloruro de calcio, el cual se añadió gradualmente. Esta mezcla se agitó por 20 minutos en un baño a 4 °C. La separación de las fases se realizó agregando 15 ml de agua destilada, continuando con la agitación magnética por 10 min. El extracto fue filtrado y llevado a un embudo de separación. La fase orgánica se recolectó en un balón de aforo y llevado a 50 ml con hexano. La concentración de carotenoides totales se determinó por espectrofotometría a 450 nm siguiendo el método publicado por Sze e Indrawati (2012). Las concentraciones calculadas por este método se reportaron en μg de β caroteno/g en base seca.

2.6.3 Determinación de polifenoles

Los polifenoles se destacan por su amplia disponibilidad en la naturaleza y su elevada capacidad antioxidante. Para la determinación del contenido de polifenoles totales en frutas, se aplicó el método publicado por Slinkard y Singleton (1977). El proceso de extracción fue realizado en una solución de acetona al 70 % (v/v) en agitación magnética por 45 minutos, para lo cual se pesó 0,3 a 1 g de muestra liofilizada; la mezcla fue centrifugada por 10 min a 3500 rpm (FCR =479,77) y el sobrenadante (extracto bruto) fue recogido en viales con tapa.

La determinación de los compuestos solubles en agua (fracción A) se realizó tomando 25, 50 ó 75 µl del extracto bruto, el cual fue llevado a 500 µl con metanol puro. La cuantificación de la fracción A se realizó siguiendo el método de Folin-Ciocalteu (Slinkard K. y Singleton V. L., 1977).

Para la separación de polifenoles y compuestos solubles en agua (fracción B), se empleó cromatografía de fase sólida con ayuda de cartuchos Oasis C18 (Waters), previamente acondicionados (lavado con una vez con 3 ml de metanol + lavado dos veces con 3 ml de agua). Para esto se tomaron 500 µl del extracto bruto y se diluyeron con 3,5 ml de agua destilada; la purificación del extracto se realizó pasando una alícuota de 2 ml de la solución (extracto puro + agua) por el cartucho Oasis; el cartucho fue posteriormente lavado dos veces con 2 ml de agua. A partir de la solución obtenida (extracto puro) se tomaron 500 µl y se aplicó el método de Folin-Ciocalteu (Slinkard K. y Singleton V. L., 1977).

La cuantificación de polifenoles totales se realizó por colorimetría utilizando el método de Folin-Ciocalteu (Slinkard K. y Singleton V. L., 1977). Para esto se añadieron 2,5 ml del reactivo de Folin (diluido al 10% v/v con agua destilada) en la fracción A y B; se dejó a temperatura ambiente por dos minutos y posteriormente se agregaron 2 ml de carbonato de sodio (7,5 %; p/v). La solución se agitó e incubó a 50 °C por 15 minutos. Finalizada la incubación los tubos fueron llevados a un baño de agua a 4 °C para detener la reacción.

La absorbancia de las muestras fue leída a 760 nm con ayuda de un espectrofotómetro UV-VIS Shimadzu 2200 y la concentración se determinó en base a una curva de calibración con patrones de ácido gálico. Las concentraciones calculadas por este método se reportaron en mg de ácido gálico/100 g de muestra seca.

2.6.4 Determinación de Vitamina C

Para la cuantificación del contenido de vitamina C se aplicó el método reflectométrico (Merck KGaA, 2012) basado en el principio del cambio de color producido durante la oxidación del ácido molibdofosfórico, que pasa de color amarillo a azul en presencia de ácido ascórbico. El contenido de vitamina C en muestras liofilizadas se determinó con ayuda de un reflectómetro RQflex plus 10. Tomando en consideración que este analito es un compuesto polar se empleó agua destilada como solvente.

El proceso de extracción de vitamina C se realizó mediante agitación magnética durante 30 minutos a temperatura ambiente. Para esto se tomaron 0,1-0,8 g de muestra liofilizada y se añadieron 15 ml de agua destilada. El extracto se aforó a 25 ml con agua destilada.

La cuantificación del contenido de vitamina C se realizó introduciendo las tiras de ensayo marca Merck en cada una de las muestras y se dejó que ocurriera la reacción por 2 segundos. Después del tiempo de reacción se midió el valor de la reflectancia. Las concentraciones calculadas por este método se reportaron en mg de ácido ascórbico/100 g de muestra.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Rendimiento y contenido de humedad

En el proceso de preparación de muestras se separó la pulpa y las semillas del fruto, y se evaluaron el porcentaje de rendimiento (Tabla 2) y la humedad de cada fruta (Tabla 3). Este parámetro es importante tanto para la industria como para el estudio realizado, porque permite establecer el porcentaje de fruta aprovechable para su consumo o procesamiento (liofilización). La fruta que presentó el mejor rendimiento fue la mora con 91,04 % seguido por uvilla, mortiño, tomate de árbol, arazá y naranjilla (87,51; 82,62; 68,33; 64,37 y 59,21 %), resultados que concuerdan con estudios realizados por diferentes autores (Medina G., 2006; Montalvo D., 2011; Torres N., 2006). De acuerdo a los resultados reportados en la Tabla 3, se determinó que el contenido de humedad es inversamente proporcional al rendimiento de la fruta. Es así, que las muestras de mora y uvilla presentaron un mayor rendimiento con respecto a las otras frutas, pero el contenido de humedad es menor que estas (< 84 %). Los resultados del contenido de humedad obtenidos fueron comparados con diferentes trabajos de investigación realizados, en los que se reporta valores de 95,12 % en arazá (Laverde J., 2011); 84,85 % en mora (Montalvo D., 2011); 84,04 % para mortiño (Montalvo D., 2011) 90,46 % en naranjilla (López A., 2011); 87,16 % en tomate de árbol (Torres N., 2006) y 81,26 % en uvilla (Medina G., 2006).

Tabla 2. Caracterización física de frutas tropicales y andinas ecuatorianas.

FRUTA	DESCRIPCIÓN DE LA FRUTA *				
	PESO (g)	LONGITUD (cm)	DIÁMETRO (cm)	FIRMEZA (N)	RENDIMIENTO (%)
Arazá	138,36±15,28	6,84±0,89	7,01±0,73	14,42±5,00	64,37±0,10
Mora	5,25±2,65	2,20±0,22	2,02±0,17	3,22±0,49	91,04±0,07
Mortiño	0,21±0,06	0,71±0,09	0,69±0,08	0,69±0,008	82,62±0,02
Naranjilla	110,54±25,91	5,62±0,43	5,67±0,45	48,05±17,55	59,21±0,34
Tomate de árbol	90,54±6,74	6,92±0,29	5,2±0,19	55,80±16,57	68,23±0,03
Uvilla	5,42±0,15	2,00±0,11	2,12±0,16	2,65±0,39	87,51±0,03

*Los resultados son reportados promedios en base fresca ± desviación estándar de 20 repeticiones para las determinaciones de peso, longitud, diámetro, firmeza.

3.2 Caracterización física

La caracterización física de la fruta permitió identificar y reconocer los diferentes cultivares o variedades seleccionadas. En muestras de arazá se identificaron dos clones diferentes (clon 001 y 003) en función de parámetros como: peso, largo y diámetro. Trabajos realizados por Toledo (2010), reportaron un peso de 192,53 g, superior a los valores reportados en este trabajo (138,36 g); sin embargo, los valores promedio para el largo (7,51 cm) y diámetro (8,14 cm) fueron similares para los dos clones evaluados (clon 001 y clon 003).

Montalvo (2011), obtuvo valores similares a los presentados en la Tabla 2 para mora variedad INIAP Andimora; reportando un peso promedio de 5,32 g; largo de 2,17 cm y diámetro de 2,05 cm.

El mortiño es una baya silvestre y, por el momento, no cuenta con una variedad específica identificada; en este sentido la revisión bibliográfica realizada no permitió encontrar estudios sobre la caracterización física de este fruto, los únicos valores de referencia encontrados para el peso y diámetro (0,32 g y 0,65 cm) de esta fruta fueron los reportados por Montalvo (2011) y Tupuna (2012), los mismos que son similares a los presentados en la Tabla 2.

En naranjilla (Tabla 2) los valores coincidieron con lo reportado por López (2011), quien obtuvo 109,54 g para el peso y 5,57 y 5,86 cm para el largo y diámetro, respectivamente.

Lo reportado en la Tabla 2, concuerda con los resultados presentados por Torres (2006), tanto para peso, largo y diámetro de tomate de árbol Anaranjado Gigante.

Medina (2006) trabajó con uvilla de la variedad Golden Keniana, reportando valores de 5,32 g, 1,99 cm y 2,11 cm para las determinaciones de peso, largo y diámetro, respectivamente; estos valores confirman los resultados obtenidos en este estudio (Tabla 2).

3.3 Firmeza

La firmeza de la fruta se evaluó como parámetro de control del grado de madurez de las frutas, encontrándose una variación importante en todas las muestras (Tabla 2). En naranjilla se observó una mayor variabilidad con un coeficiente de variación de 35,98 %, seguido por arazá, tomate de árbol, mora, mortiño y uvilla (34,69; 29,81; 16,00; 11,19 y 4,34 %), lo que explica la variación en cuanto a las características físicas, químicas y antioxidantes.

3.4 Caracterización química.

Tabla 3. Caracterización química de frutas tropicales y andinas ecuatorianas

FRUTA	DESCRIPCIÓN DE LA FRUTA *			
	pH	ACIDEZ TITULABLE (%)	HUMEDAD (%)	SÓLIDOS SOLUBLES (°Brix)
Arazá	2,86±0,10	2,39±0,02	95,36±0,30	3,83±1,20
Mora	2,89±0,07	2,81±0,07	84,09±1,26	12,69±0,43
Mortiño	3,20±0,02	0,96±0,05	84,85±0,79	11,81±0,26
Naranjilla	2,83±0,34	2,58±0,15	90,55±0,56	9,55±0,77
Tomate de árbol	3,75±0,03	2,09±0,05	87,16±1,17	12,43±0,94
Uvilla	3,75±0,03	2,09±0,05	81,26±0,79	13,73±1,50

*Los resultados son reportados en base fresca ± desviación estándar de 20 repeticiones para los sólidos solubles (°Brix); en el caso de pH, acidez titulable y humedad ± desviación estándar de 10 repeticiones.

Los resultados obtenidos para los parámetros químicos evaluados se reportan en la Tabla 3 y fueron comparados bibliográficamente con investigaciones previas. Es así que en arazá, Laverde (2011) presentó valores de pH y acidez titulable de 2,79 y 4,40 °Brix de sólidos solubles para el clon 003, lo que difiere de lo obtenido en este estudio.

En mora (variedad INIAP Andimora 2013) Montalvo (2011) reportó valores de 2,93 para el pH, 2,62% para la acidez titulable y un contenido de sólidos solubles de 12,60 °Brix, confirmando los resultados presentados en la Tabla 3.

Para mortiño nativo (Tabla 3), los resultados obtenidos confirmaron los estudios realizados por Montalvo (2011): pH de 2,92, acidez titulable de 1,20 %; y Tupuna (2012): sólidos solubles 11,0 °Brix, para muestras procedentes de Cotopaxi y Pichincha, respectivamente.

En naranjilla (variedad INIAP Quitoense 2009) se encontró una variación en el contenido de sólidos solubles (9,55 °Brix) con respecto a los datos reportados por López (2011): 12,60 °Brix, probablemente debido a que las muestras seleccionadas para la investigación y las escogidas por este autor estuvieron en distintos estados de madurez. En cuanto al pH (2,93) y acidez titulable (2,62 %), los valores fueron muy similares a los reportados por dicho autor.

Para tomate de árbol variedad Anaranjado Gigante, Torres (2006) presentó valores de pH (3,76), acidez titulable (1,87 %) y sólidos solubles (12,7 °Brix), similares a los reportados en este estudio (Tabla 3). Las diferencias encontradas estuvieron influenciadas por las zonas de procedencia y el estado de madurez de las muestras en estudio.

Finalmente, Medina (2006) presentó valores similares a los de la Tabla 3: pH de 3,74; 1,26 % de acidez titulable y 12,7 °Brix, para muestras de uvilla variedad Golden Keniana.

3.5 Caracterización funcional

En la Tabla 4 se presenta el perfil de compuestos antioxidantes en las frutas tropicales y andinas en estudio.

Tabla 4. Perfil de compuestos antioxidantes en frutas tropicales y andinas ecuatorianas

FRUTA	ANTIOXIDANTES			
	Antocianinas Totales* (mg Cy-3-glu/100g)	Carotenoides Totales* (µg β-caroteno/g)	Polifenoles Totales* (mg ácido gálico/100 g)	Vitamina C* (mg ácido ascórbico/100 g)
Araza	ND	62,85±3,36	3507,79±1430,36	427,74±78,83
Mora	1416,69±158,71	ND	6352,28±633,61	100,49±11,19
Mortiño	2682,30±602,92	ND	7254,62±1209,17	75,10±16,68
Naranja	ND	57,93±4,28	897,58±227,77	200,62±20,50
Tomate de árbol	ND	123,18±16,61	1062,77±57,87	193,84±24,75
Uvilla	ND	65,21±8,31	259,93±42,74	159,22±23,89

*Los resultados son reportados en base seca ± desviación estándar de 15 repeticiones. ND (No detectable)

3.5.1 Antocianinas totales

Las antocianinas (Tabla 4) son parte del perfil de compuestos bioactivos presentes en mortiño y mora, encontrándose una concentración promedio de 2682,30 mg de Cy-3-glu/100 g en mortiño, similar a lo reportado por Vasco et al. (2009): 3832,95 mg de Cy-3-glu/100 g y 1416,68 mg de Cy-3-glu/100g para mora dentro del intervalo reportado por otros autores (Garzón G. A. et al., 2009; Mertz C. et al., 2009)

3.5.2 Carotenoides totales

La fruta que presentó mayor concentración de carotenoides totales (Tabla 4) fue el tomate de árbol con 123,18 µg de β-caroteno/g, similar a lo reportado Mertz et al. (2009), al cual es atribuido al color anaranjado de la fruta.

En uvilla, los valores obtenidos (65,21±8,31 µg de β-caroteno/g en base seca), son cercanos a los reportados por Ramadan (2011), quien presentó un valor de carotenoides totales de 16 µg de β-caroteno/g en muestra fresca, el cual corresponde a 85,38 µg de β-caroteno/g de muestra seca (Tabla 4).

El valor promedio para el contenido de carotenoides totales en las 15 muestras de arazá analizadas fue de 62,85±3,36 µg de β-caroteno/g de muestra seca. Estos resultados en muestras de arazá del clon 003 confirman los estudios realizados por Laverde (2011), quien encontró: 55,32 µg de β-caroteno/g de muestra seca.

El color de la naranja (Tabla 4) tendió hacia la tonalidad verde, lo que se reflejó en una menor concentración de carotenoides (57,93 µg de β-caroteno/g), estos valores confirmaron los estudios realizados por Acosta et al., (2009), en los que se hallaron 76,59 µg de β-caroteno/g de muestra seca en naranja de Costa Rica.

3.5.3 Polifenoles totales

El análisis de polifenoles totales en las seis frutas seleccionadas (Tabla 4) demostró que el mortiño y la mora presentan los contenidos más altos de este antioxidante. En muestras de mortiño se obtuvieron 7254,62 ± 1209,17 mg de ácido gálico/100 g de muestra seca. Estos resultados son similares a los reportados por diferentes autores (Tupuna D., 2012; Vasco C., et al., 2009) para muestras de mortiño ecuatoriano (8104,52 a 9799,02 mg de ácido gálico/100 g de muestra seca). En mora variedad INIAP Andimora 2013 se identificó un contenido de polifenoles totales de 6352,28 ± 633,61 mg de ácido gálico/100 g de muestra seca, estos resultados fueron similares a los reportados por Mertz et al. (2009), Montalvo D. (2011) y Garzón et al., (2009), para muestras de mora de Castilla de diferentes orígenes (2340,24 a 6300 mg de ácido gálico/100 g de muestra seca).

Para muestras de arazá el valor obtenido fue de 3507,79 ± 1430,36 mg de ácido gálico/100 g de muestra en base seca, superior al valor reportado por Laverde (2011) de 2477,72 mg de ácido gálico/100 g en muestra seca.

Los estudios realizados en naranja, reportaron un contenido de polifenoles de 897,58 ± 227,77 mg de ácido gálico/100 g de muestra en base seca. Estos resultados son superiores a los estudios realizados por diferentes autores como Cerón et al. (2010), Vasco et al. (2008), Contreras-Calderón et al. (2011) y Acosta et al. (2009) quienes reportaron entre 510,72 y 699,79 mg de ácido gálico/100 g de muestra seca.

Para tomate de árbol Anaranjado Gigante se obtuvo un contenido de polifenoles de 1062,77 ± 57,87 mg de ácido gálico/100 g en base seca que corresponde a 136,36 ± 7,43 mg de ácido gálico/100 g en base fresca. Estos resultados fueron superiores a los reportados por Torres (2006), quien presentó un valor de polifenoles de 84 mg de ácido gálico/100 g en muestra fresca.

El contenido promedio de polifenoles totales en uvilla fue de 259,93 ± 42,74 mg de ácido gálico/100 g de muestra seca, lo que confirma lo reportado por Cerón et al. (2010), quienes presentaron un valor de polifenoles totales en uvilla colombiana de 215,60 mg de ácido gálico/100 g en muestra seca.

3.5.4 Vitamina C

Los resultados de esta investigación mostraron que la fruta que presentó el contenido promedio más alto de vitamina C fue el arazá, con 427,74 mg de ácido ascórbico/ 100 g de muestra, valores superiores a los reportados por Mejía et al., (2006) y Contreras-Calderón et al., (2011) entre 182,77 y 61,7 mg de ácido ascórbico/100 g). Le siguieron, en este orden, la naranja, el tomate de árbol, la uvilla, la mora y el mortiño.

Los valores reportados en la Tabla 4 para naranjilla fueron superiores a los reportados por Cerón et al. (2010) y Vasco et al. (2008) para naranjilla originaria de Ecuador y Costa Rica (84,59 a 133 mg ácido ascórbico/100 g). En tomate de árbol los valores obtenidos (ver Tabla 4) fueron similares a los reportados por Torres (2006) de $33,19 \pm 19$ mg de ácido ascórbico/100 g en muestra fresca. Para uvilla de la variedad Golden Keniana los valores presentados en la Tabla 4, estuvieron dentro del rango reportado por diferentes autores (Medina G., 2006; Ramadan M., 2011) para uvilla de diferentes orígenes y variedades (98,28 a 229,19 mg de ácido ascórbico/100 g).

Las frutas que presentaron un menor contenido de vitamina C fueron mora y mortiño (Tabla 4); estos valores fueron comparados con los encontrados en estudios realizados por Garzón et al., (2009) y Montalvo (2011). Los valores de vitamina C en mora hallados en el presente trabajo (100,49 mg ac. ascórbico/100 g) resultaron dentro del intervalo reportado en la bibliografía (80,40 a 132,66 mg de ácido ascórbico/100 g). Vasco et al., (2009) reportó en mortiño nativo de Ecuador valores de 99,99 mg de ácido ascórbico/100 g, algo superiores a los 75,10 mg/100 g determinados en este trabajo.

4. CONCLUSIONES

Los resultados presentados en este trabajo permitió crear una base de datos de parámetros físicos (longitud, diámetro, peso, firmeza y rendimiento), químicos (acidez titulable, pH, % de humedad, sólidos solubles) y funcionales (antocianinas, carotenoides, polifenoles y vitamina C) de seis frutas exóticas ecuatorianas de diferentes variedades y procedencias.

Queda evidenciado que los frutales seleccionados contienen propiedades antioxidantes beneficiosas para el organismo humano y el contar con una información completa acerca de las características y variedades cultivadas permitirá su aprovechamiento a nivel científico, industrial y de consumo.

Los resultados obtenidos en el estudio fueron comparados bibliográficamente con frutas procedentes de otros países y localidades, estableciéndose que existe una clara influencia de la zona de producción sobre las características físicas, químicas y funcionales de las frutas evaluadas.

Es importante establecer que en el caso del arazá, la mora y la naranjilla se trabajó con material vegetal desarrollado por el INIAP. En el caso del tomate de árbol, la uvilla y el mortiño se seleccionaron muestras de autóctonas de localidades ecuatorianas.

En función del análisis del contenido de antocianinas totales se estableció que las muestras de mortiño, la especie más rica en dicho fitoquímico, que procedieron de Salinas presentaron un menor contenido de antocianinas con respecto a las muestras procedentes de Machachi y Sigchos.

Dentro del análisis de carotenoides se encontró muy poca información bibliográfica con respecto a frutas cultivadas en Ecuador como el arazá, naranjilla, tomate de árbol y uvilla; por lo cual la comparación se realizó con frutales originarios de otros países identificándose una variación entre los valores obtenidos y los bibliográficos de referencia.

En frutos como el arazá y el mortiño se observó una variación importante en el contenido de polifenoles totales. Esta variación se atribuyó a que las muestras incluyeron dos clones diferentes en arazá (clon 001 y 003) y muestras de distinta procedencia en mortiño (Sigchos, Salinas y Machachi). En arazá se observó que las muestras que corresponden al clon 001 presentaron un contenido de polifenoles superiores a las muestras del clon 003. Para mortiño nativo se determinó que las muestras procedentes de Sigchos y Machachi presentaron un mayor contenido de polifenoles.

De igual manera, en el contenido de vitamina C se identificó una influencia de la zona de producción y la variedad sobre este compuesto bioactivo; obteniéndose valores diferentes que permitieron clasificar las frutas seleccionadas de acuerdo a la variedad o clon y a la zona de producción.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el valioso aporte del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación Experimental Santa Catalina, de manera especial al Departamento de Nutrición y Calidad que, mediante el Proyecto 21005270032 del Programa de Fortalecimiento Institucional, permitió la ejecución de este trabajo de investigación.

REFERENCIAS

Acosta O., Pérez A. M., & Vaillant F. (2009). Chemical characterization, antioxidant properties, and volatile constituents of naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) cultivated in Costa Rica. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 59(1), 88-94.

Altamirano M. (2010). Estudio de la cadena productiva de la uvilla (*Physalis peruviana* L.) en la Sierra norte del Ecuador. BSc Thesis, Universidad San Francisco de Quito, Quito (Ecuador).

- Andrade J. (2012). Estudio de la capacidad antioxidante total y contenido de compuestos antioxidantes en mortiño (*Vaccinium floribundum*) tratado con luz UV-C. BSc Thesis, Universidad Tecnológica Equinoccial, Quito (Ecuador).
- Cerón I., Higueta J., y Cardona C. (2010). Capacidad antioxidante y contenido fenólico total de tres frutas cultivadas en la región andina. *Vector*, 5, 17-26.
- Contreras-Calderón J., Calderón L., Guerra E., y García B. (2011). Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Research International*, 44(7), 2047-2053.
- Garzón G. A., Rield K. H., y Schwartz S. I. (2009). Determination of anthocyanins, total phenolic content and antioxidant activity in Andes Berry (*Rubus glaucus* Benth). *Journal of Food Science*, 74(3), c227-c232.
- Jaramillo V. (2013). Nueva variedad de mora de castilla sin espinas. INIAP, 8(Abril).
- Laverde J. (2011). Estudio de las condiciones óptimas para la obtención de jugo clarificado de arazá (*Eugenia stipitata*) mediante procesos enzimático y membranario. BSc Thesis, Escuela Politécnica Nacional., Quito (Ecuador).
- López A. (2011). Determinación de las características fisicoquímicas y estudio de los índices de calidad en el comportamiento postcosecha en clones élite provenientes de cruzamientos de naranjilla en la provincia de Pastaza. BSc Thesis, Universidad Técnica del Norte, Ibarra (Ecuador).
- López J., García N., y Salazar R. (2010). Proyecto de valoración financiera de la elaboración y comercialización de pulpa de arazá para la ciudad de Guayaquil. BSc Thesis, Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), Guayaquil (Ecuador).
- Medina G. (2006). Determinación del potencial nutritivo y nutracéutico de dos ecotipos de uvilla (*Physalis peruviana* L.) y granadilla (*Passiflora ligularis* L.). PhD Thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Riobamba (Ecuador).
- Mejía L., Narváez E., y Restrepo L. (2006). Cambios físicos, químicos y sensoriales durante el almacenamiento congelado de pulpa de arazá (*Eugenia stipitata* Vaugh). *Agronomía Colombiana*, 24(1), 87-95.
- Merck KGaA. (2012). Test de ácido ascórbico 25-450 mg/l. Método reflectométrico mediante tiras de test Reflectoquant(R).
- Mertz C., Gancel A. L., Gunata Z., Alter P., Dhuique-Mayer C., Vaillant F., et al. (2009). Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(5), 381-387.
- Montalvo D. (2011). Evaluación de la calidad poscosecha de las accesiones seleccionadas de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) provenientes de las provincias de Tungurahua y Bolívar. BSc Thesis, Escuela Politécnica Nacional, Quito (Ecuador).
- Orozco L. (2003). Proyecto de elaboración de una bebida energizante de pulpa de naranjilla. BSc Thesis, Universidad Tecnológica Equinoccial., Quito (Ecuador).
- Ramadan M. (2011). Bioactive phytochemicals, nutritional value, and functional properties of cape gooseberry (*Physalis peruviana*): An overview. *Food Research International*, 44, 1830-1836.
- Rapisarda P., Fanella F., y Maccarone E. (2000). Reability of Analytical Methods for Determining Anthocyanins in Blood orange Juices. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48(6), 2249-2251. doi: 10.1021/jf991157h
- Revelo J., Pérez E., y Maila V. (2004). Cultivo ecológico del tomate de árbol en Ecuador. Texto de consulta del estudiante. (pp. 87). Quito (Ecuador): INIAP, PROMSA, FONTAGRO.
- Rodríguez H., Cuspoca J., Fischer G., Moreno L., y Quicazán M. (2007). Caracterización fisicoquímica y organoléptica del fruto de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) almacenado a 2°C. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, 60(2), 4179-4193.
- Schotsmans W., Molana A., y MacKay B. (2007). Controlled atmosphere storage of rabbiteye blueberries enhances postharvest quality aspects. *Postharvest Biology and Technology*, 44(3), 277-285.
- Slinkard K., y Singleton V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55.
- Sze L., y Indrawati O. (2012). Effects of processing on anthocyanins, carotenoids and vitamin C in summer fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 133(4), 1577-1587. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.02.052
- Tapia M. E., y Fries A. M. (2007). Guía de campo de los cultivos andinos. Lima (Perú): FAO, ANPE.
- Toledo D. (2010). Determinación del valor nutritivo y funcional de tres clones seleccionados de arazá (*Eugenia stipitata*) y seis de borjój (*Borojoa patinoi*), y evaluación del proceso para la obtención de pulpas pasteurizadas y congeladas. BSc Thesis, Escuela Politécnica Nacional, Quito (Ecuador).
- Torres N. (2006). Determinación del potencial nutritivo y nutracéutico de cuatro cultivares de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav). PhD Thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba (Ecuador).

Tupuna D. (2012). Obtención de jugo concentrado clarificado de mortiño mediante el uso de tecnología de membranas. BSc Thesis, Escuela Politécnica Nacional, Quito (Ecuador).

Vasco C., Riihinen, K., Ruales J., y Kamal-Eldin A. (2009). Chemical Composition and Phenolic Compound Profile of Mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(18), 8274-8281.

Vasco C., Ruales J., y Kamal-Eldin A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111, 816-823. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.04.054

Viteri P., Vásquez W., León J., Viera W., Posso W., Hinojosa M., et al. (2009). Naranjilla de jugo (*Solanum quitoense* Lam.) injerta en patrones de solanáceas silvestres resistentes a *Fusarium oxysporum* y a *Meloidogyne incognita*. INIAP, 354, 12.

SUSTITUCIÓN PARCIAL DE AGAR-AGAR POR GELATINA EN LA ELABORACIÓN DE GOMITAS CON PULPA DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis Sims.*)

PARTIAL REPLACEMENT OF AGAR-AGAR BY GELATIN IN THE PROCESSING OF PASSION FRUIT (*Passiflora edulis Sims.*) PULP GUMMIES

P. Rodríguez, J. Ortiz¹

Universidad Técnica de Ambato (UTA), Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos,
Av. Los Chasquis y Río Payamino, Ambato, Ecuador.

Artículo recibido: 22/10/14

Artículo aceptado: 11/11/14

RESUMEN

En este trabajo de investigación se realizó la sustitución parcial de agar-agar por gelatina en la elaboración de gomitas con pulpa de maracuyá *Passiflora edulis*. Se empleó un diseño experimental compuesto central, con tres factores; Porcentaje de agar-agar, Porcentaje de gelatina y Porcentaje de pulpa de maracuyá. En 16 tratamientos se determinó el contenido de humedad, sólidos solubles, porcentaje de acidez y pH; del análisis sensorial se obtuvo que el mejor tratamiento contiene 62,5 % de agar-agar, 50 % de Gelatina, 60 % de Pulpa de maracuyá, según las cataciones realizadas por niños y adultos semientrenados. El tiempo de vida útil es de 2 meses, a 17 °C y 65 % Humedad Relativa.

Palabras clave: agar-agar, gelatina, maracuyá, vida útil, gomitas.

ABSTRACT

In this research the partial substitution of agar-agar for gelatin in developing gummies with *Passiflora edulis* passion fruit pulp was performed. A central composite experimental design with three factors was used; Percentage of agar-agar, gelatin and Percentage of Percentage of passion fruit pulp. In 16 treatments moisture content was determined, soluble solids, percent acidity and pH; sensory analysis was obtained that the best treatment contains 62.5 % of agar-agar, 50 % gelatin, 60 % passion fruit pulp, according to the tastings conducted by semi-trained children and adults. The shelf life is 2 months at 17 °C and 65 % RH.

Keywords: agar-agar, gelatin, passion, shelf life, jelly beans.

1. INTRODUCCIÓN

El desarrollo de una tecnología para la elaboración de gomitas con pulpa de fruta es una alternativa de procesamiento, para el consumo de alimentos saludables libres de colorantes y saborizantes químicos (Paltrinieri G. et al., 1997).

Según diversas fuentes (Euromonitor International, 2014; Feedpack News, 2014), en el mercado mundial y nacional es frecuente el consumo de productos denominados como "golosinas", tanto de naturaleza salada y dulce; dentro de estas golosinas dulces podemos citar a las denominadas "gomas", que es un producto de característica gelatinosa, que en su composición tiene agua, azúcar, colorantes y saborizantes artificiales.

Actualmente en el país hay una elevada producción de confites entre estos las "gomas", esto conlleva a que haya un desarrollo de microempresas que elaboran estos productos, los cuales proporcionan solamente energía, pero ningún valor nutricional al consumidor, especialmente a los niños, es por esto que es necesario realizar gomitas que aporten beneficios con materia prima diferente como agar-agar y pulpa de fruta. Las gomitas son confituras en las cuales existe algún agente gelificante de naturaleza animal o vegetal en su fórmula que le otorga su textura, caracterizada por la elasticidad (condición de recuperar su forma

*Autor de correspondencia: Jacqueline Ortiz. E-mail: jortices@uta.esu.ec; Telf.: +593(0)32400987

elasticidad (condición de recuperar su forma rápidamente cuando se le somete a presión) lo que indica Álvarez (2004); el producto base contiene entre un 20-30% de agua que se evapora durante el proceso de cocción, la masa es dulce, pegajosa y no tiene color. Su aspecto final puede ser abrigantado o azucarado. Para la elaboración de estas gomitas se utiliza agar-agar, que es un derivado de algas marinas, usado para conseguir un gel firme y rígido con la característica de que se puede calentar hasta los 85 °C sin que se funda, permitiendo moldear, dando una textura termo-irreversible, brillante y resistente al calor por lo que es apropiada para hacer gelatinas calientes (Ranken M., 1993).

Estas limitaciones han generado el interés por investigar nuevas tecnologías de procesamiento para obtener productos más sanos, con mejores características organolépticas de las que se expende en el mercado. Estas limitaciones han generado el interés por investigar nuevas tecnologías de procesamiento para obtener productos más sanos, con mejores características organolépticas de las que se expende en el mercado.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materia prima

Maracuyá (*Passiflora edulis*) fue adquirido en el Mercado Mayorista, provincia de Tungurahua, Cantón Ambato, de Diciembre 2013 a Febrero 2014. El agar-agar fue adquirido en la Empresa Villa San Carlos, localizada en Cuenca (Ecuador). La gelatina sin sabor se obtuvo en un supermercado de la ciudad de Ambato (provincia de Tungurahua, Ecuador).

2.2 Metodología

Se realiza la recepción los ingredientes: gelatina, agar-agar, conservantes, fruta, azúcar, etc. El maracuyá fue seleccionado de acuerdo a sus características físicas adecuada posteriormente se realizó un lavado para eliminar impurezas; se colocó en el despulpador y se obtuvo la pulpa. Seleccionados los insumos, se procede al pesado, de acuerdo la formulación de la mezcla previamente calculada, se facilitó el proceso mediante el empleo de una balanza. Se mezcló en un recipiente la pulpa de maracuyá, el jarabe de azúcar, agua, glucosa, conservante tratando que quede uniforme la mezcla. Se calentó la mezcla a 95 °C en marmita de acero inoxidable, se mantuvo por un tiempo de 10 minutos. Se colocó la mezcla caliente a una temperatura de 80 °C en los moldes plásticos de diferente figura. Los moldes se colocaron en refrigeración con una temperatura de -2 °C alrededor de 4 horas. Posteriormente se desmoldaron y se empacaron en tarrinas plásticas de 100 g y conservó a temperatura ambiente.

2.3 Diseño experimental

Durante el proceso de elaboración de gomitas se empleó un diseño experimental compuesto central, con tres replicas, 16 tratamientos y cuarenta y ocho observaciones para cada una de las gomitas más un control o testigo (goma comercial), a efectos de comparación (Tabla 1 y 2).

Tabla 1. Estructura del diseño compuesto central

	- α	-1	0	+1	+ α
Factor A: agar-agar	25	43,75	62,5	81,25	100
Factor B: gelatina	25	37,5	50	62,5	75
Factor C: pulpa maracuyá	30	37,5	45	52,5	60

Tabla 2. Diseño Experimental de Gomitas con Pulpa de Maracuyá

Tratamientos	Simbología	Factor A (%)	Factor B (%)	Factor C (%)
T1	1	43,75	37,5	37,5
T2	A	81,25	37,5	37,5
T3	B	43,75	62,5	37,5
T4	Ab	81,25	62,5	37,5
T5	C	43,75	37,5	52,5
T6	Ac	43,75	62,5	37,5
T7	Bc	43,75	62,5	52,5
T8	Abc	81,25	62,5	52,5
T9	Centro	62,5	50	45
T10	- $\alpha\alpha$	25	50	45
T11	Aa	100	50	45
T12	- $\alpha\beta$	62,5	25	45
T13	Ab	62,5	75	45
T14	- $\alpha\gamma$	62,5	50	30
T15	Ac	62,5	50	60
T16	Centro	62,5	50	45

2.4 Análisis de propiedades físico-químicas.

Humedad, mediante la norma NTE INEN 265 (INEN, 1980); pH, mediante potenciometría, (pH-metro); acidez titulable, mediante la norma NTE INEN 162 (INEN, 1975) y sólidos solubles, mediante la norma NTE INEN 380 (INEN, 1985).

2.5 Evaluación sensorial de las gomitas.

Siguiendo los principios establecidos por Cochran y Cox (1990), se estableció que el producto fuera degustado por dos bloques de 35 catadores que evaluaron cinco atributos: color, olor, sabor, textura y aceptabilidad. Estas evaluaciones fueron realizadas por 35 niñas de 11-13 años estudiantes de la Unidad Educativa "Rodríguez Alborno" con una escala hedónica de caritas y por 35 catadores semientrenados adultos de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos con una escala hedónica de cinco puntos siendo 1 el menos agradable y 5 el más atractivo.

2.6 Análisis para el mejor tratamiento

El mejor tratamiento se obtuvo mediante evaluación sensorial. En este tratamiento se analizó: Textura, (ciclos de dureza, cohesividad, adhesividad, elasticidad y masticabilidad) realizados mediante texturómetro Brookfield (Brookfield, 2013). Asimismo, se determinó el contenido en vitamina A, mediante el método AOAC 992.06; el contenido de vitamina C, mediante el método AOAC 967.21; el contenido de cenizas, mediante el método AOAC 923.03; la proteína, mediante el método AOAC 2001.11, la humedad, mediante el método AOAC 935.46B y la fibra dietética total, mediante el método AOAC 985.29 (AOAC, 2000). Los análisis microbiológicos de aerobios mesófilos totales, mohos, levaduras y coliformes totales fueron determinados siguiendo la metodología recogida en la norma NET INEN 2217 (INEN, 2012).

2.7 Determinación de vida útil de las gomitas.

Se realizó la determinación del tiempo de vida útil en el mejor tratamiento, mediante análisis de la actividad de agua en condiciones aceleradas.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó análisis físico químicos para los 16 tratamientos y la gomita comercial lo cual se presenta en la Tabla 3 indicando que el tratamiento 15 es el mejor aceptándose las desviaciones estándar para los diferentes análisis.

Tabla 3. Promedio de Análisis Físico- Químicos de las gomitas

Tratamiento	Humedad (%)	pH	Sólidos Solubles (°Brix)	Acidez titulable (mg/100g)
T1	32,43±3,35	3,88±0,11	39,17±2,88	0,13±0,00
T2	29,57±2,13	3,78±0,38	38,75±1,80	0,13±0,00
T3	31,72±4,73	3,79±0,29	39,50±1,15	0,14±0,00
T4	37,91±3,42	3,67±0,28	39,00±2,63	0,14±0,01
T5	31,85±3,23	3,33±0,43	38,83±0,88	0,17±0,00
T6	34,90±3,21	3,51±0,39	39,83±1,42	0,17±0,02
T7	28,93±3,69	3,86±0,35	40,08±2,01	0,17±0,01
T8	31,75±3,37	3,83±0,26	39,25±1,32	0,17±0,01
T9	29,87±2,23	3,80±0,22	40,58±1,04	0,17±0,01
T10	27,48±4,90	3,78±0,23	41,00±0,75	0,18±0,02
T11	32,32±2,74	3,84±0,17	39,00±1,39	0,16±0,01
T12	21,87±1,58	3,67±0,26	40,00±0,90	0,21±0,08
T13	32,56±3,17	3,91±0,15	38,50±1,39	0,20±0,02
T14	32,27±3,68	3,84±0,09	38,67±1,66	0,22±0,02
T15	23,94±1,69	3,80±0,07	39,00±0,90	0,23±0,00
T16	29,87±2,23	3,80±0,22	40,58±1,04	0,17±0,01
Com	18,11±0,31	6,05±0,01	80,50±0,71	0,10±0,01

3.1 Contenido de Humedad

La humedad es un importante parámetro, ya que determina la conservación del producto; se reporta en la Tabla 3, la existencia de una variación de la humedad según transcurre el tiempo.

La Norma NTE INEN 2217 (INEN, 2012), reporta el valor máximo de humedad de 25 %, experimentalmente el tratamiento 15 tiene 23,94 % de humedad, por lo tanto está dentro de los rangos establecidos señalándolo como el mejor tratamiento.

En la Figura 1 se demuestra la variación de humedad en función del tiempo del tratamiento 15. El resto de tratamientos presentaron un porcentaje mayor al establecido según la norma.

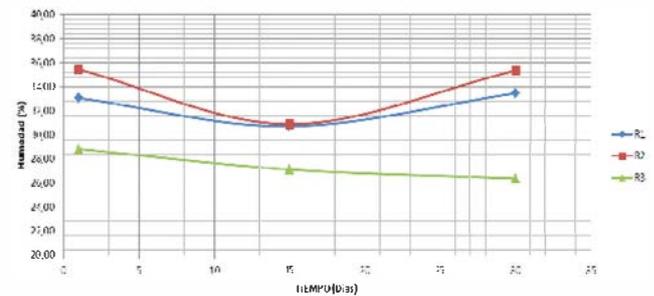


Figura 1. Contenido de Humedad del mejor tratamiento (15) en función del tiempo

Tabla 4. Contenido de Humedad de las gomitas en función del tiempo

SIMBLOGÍA	Tratamiento	R1	R2	R3	PROM.
		0 Días	15 Días	30 Días	
1	T1	33,06	35,43	28,81	32,43
A	T2	30,71	30,89	27,12	29,57
B	T3	33,45	35,34	26,38	31,72
Ab	T4	38,44	41,03	34,25	37,91
C	T5	32,21	34,88	28,45	31,85
Ac	T6	35,60	37,70	31,39	34,90
Bc	T7	29,09	32,54	25,16	28,93
Abc	T8	33,11	34,22	27,91	31,75
Centro	T9	30,38	31,79	27,43	29,87
-aa	T10	31,33	29,15	21,96	27,48
aa	T11	34,38	33,38	29,21	32,32
-ab	T12	22,47	23,06	20,09	21,87
ab	T13	35,38	33,17	29,13	32,56
-ac	T14	35,12	33,58	28,12	32,27
ac	T15	22,14	25,51	24,16	23,94
Centro	T16	30,385	31,794	27,432	29,87

3.2 pH

El pH es un importante indicador de la calidad de los alimentos y de su potencial en la estabilidad durante el almacenamiento (Adams M. R. y Moss M. O., 2008). Los valores de pH de los diferentes tratamientos se reportan en la Tabla 5 y la Figura , se observa como incrementa el pH en función del tiempo, dándose una diferencia significativa. Obteniendo un mayor incremento de pH en el tratamiento 13 por la presencia de pulpa natural en la formulación. El valor de pH de la gomita del tratamiento 15 es 3,80 y de la comercial 6,08, existiendo una diferencia debido que no posee pulpa natural de fruta.

Tabla 5. pH de las gomitas en función del tiempo

SIMBOLOGÍA	Tratamiento	R 1	R 2	R 3	PROM.
		0 Días	15 Días	30 Días	
1	T1	3,77	3,91	3,98	3,88
A	T2	3,36	3,93	4,07	3,78
B	T3	3,49	3,81	4,06	3,79
Ab	T4	3,47	3,56	3,99	3,67
C	T5	3,08	3,08	3,83	3,33
Ac	T6	3,08	3,63	3,82	3,51
Bc	T7	3,47	3,99	4,14	3,86
Abc	T8	3,55	3,91	4,04	3,83
Centro	T9	3,59	3,80	4,02	3,80
- α a	T10	3,56	3,79	4,01	3,78
α a	T11	3,65	3,88	3,99	3,84
- α b	T12	3,40	3,71	3,91	3,67
α b	T13	3,75	3,93	4,04	3,91
- α c	T14	3,76	3,83	3,94	3,84
α c	T15	3,72	3,82	3,86	3,80
Centro	T16	3,59	3,80	4,02	3,80

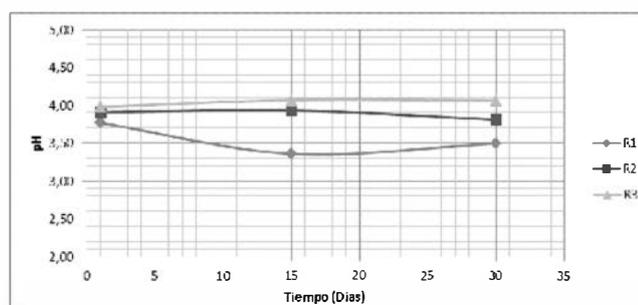


Figura 2. Contenido de pH del mejor tratamiento en función del tiempo

3.3 Sólidos Solubles

Los datos de los sólidos solubles de los diferentes tratamientos se reportan en la Tabla 6, se observa un descenso de grados Brix en los diferentes tratamientos en función del tiempo existiendo una diferencia significativa entre los mismos.

Tabla 6. Evolución del contenido de sólidos solubles totales en el tiempo.

SIMBOLOGÍA	Tratamiento	R 1	R 2	R 3	PROM.
		0 Días	15 Días	30 Días	
1	T1	42,00	39,25	36,25	39,17
A	T2	40,75	38,25	37,25	38,75
B	T3	40,50	39,75	38,25	39,50
Ab	T4	41,75	38,75	36,50	39,00
C	T5	38,75	39,75	38,00	38,83
Ac	T6	41,00	40,25	38,25	39,83
Bc	T7	42,00	40,25	38,00	40,08
Abc	T8	40,25	39,75	37,75	39,25
Centro	T9	40,25	39,75	41,75	40,58
- α a	T10	41,00	41,75	40,25	41,00
α a	T11	40,50	38,75	37,75	39,00
- α b	T12	40,25	40,75	39,00	40,00
α b	T13	39,75	38,75	37,00	38,50
- α c	T14	40,50	38,25	37,25	38,67
α c	T15	39,75	39,25	38,00	39,00
Centro	T16	40,25	39,75	41,75	40,58

En la Figura 3 se observa el valor de los grados °Brix del mejor tratamiento 15 indicando un descenso Brix según el paso de los días obteniendo 39 °Brix y comparando con una goma comercial que posee 40,5 °Brix indicando que existe una similitud y están dentro de la Norma NET INEN 2217 (INEN, 2012).

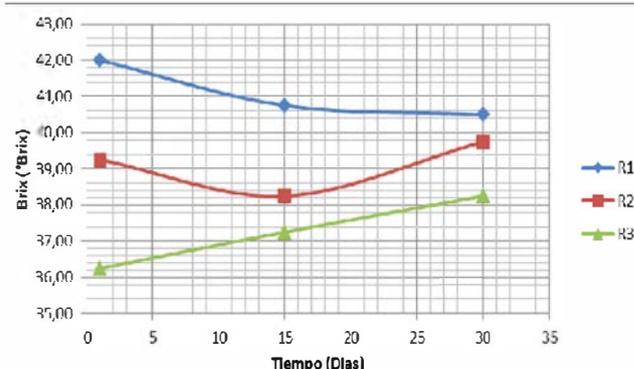


Figura 3: Contenido de sólidos solubles del mejor tratamiento (15) en función del tiempo.

3.4 Acidez titulable (% de ácido cítrico)

La acidez es importante en la calidad y estabilidad de los alimentos durante el almacenamiento. El ácido predominante en el maracuyá es el ácido cítrico. Los valores de acidez de los diferentes tratamientos se reportan en la Tabla 6, se observa como disminuye la acidez conforme aumenta los días; y el porcentaje de pulpa se incrementa. Al comparar entre tratamientos se distingue que existe una diferencia significativa entre los mismos debido a la cantidad de pulpa que posee cada una en su formulación.

El valor de acidez obtenido en el tratamiento 15 fue de 0,23 mg/100 g y 0,19 mg/100 g para la goma comercial.

Tabla 7. Evolución de la acidez titulable en el tiempo

SIMBOLOGÍA	Tratamiento	R 1	R 2	R 3	PROM.
		0 Días	15 Días	30 Días	
1	T1	0,13	0,13	0,13	0,13
A	T2	0,13	0,13	0,13	0,13
B	T3	0,14	0,13	0,14	0,14
Ab	T4	0,15	0,13	0,12	0,14
C	T5	0,17	0,17	0,18	0,17
Ac	T6	0,19	0,17	0,14	0,17
Bc	T7	0,19	0,17	0,17	0,17
Abc	T8	0,18	0,17	0,17	0,17
Centro	T9	0,18	0,18	0,15	0,17
- α a	T10	0,20	0,19	0,16	0,18
α a	T11	0,17	0,16	0,14	0,16
- α b	T12	0,18	0,22	0,24	0,21
α b	T13	0,22	0,20	0,19	0,20
- α c	T14	0,23	0,22	0,20	0,22
α c	T15	0,23	0,22	0,22	0,23
Centro	T16	0,18	0,18	0,15	0,17

3.5 Evaluación sensorial

Se realizó el análisis sensorial de las gomitas elaboradas. Se aplicó un diseño factorial de bloques con la finalidad de facilitar la evaluación de los tratamientos experimentales, de forma que se tuvieron 16 muestra de gomitas con pulpa de maracuyá, los cuales fueron distribuidos en un número de 4 muestras a cada catador, el número de catadores utilizados fue de 70 personas, distribuidos entre 35 adultos y 35 niñas y se obtuvo el mejor tratamiento. Los resultados se muestran en las Tablas 8 y 9.

Tabla 8. Perfil sensorial de cataciones realizadas por niñas

Tratamiento	Color	Olor	Sabor	Textura	Aceptabilidad
T1	3,14	3,36	3,21	3,64	3,07
T2	3,00	3,21	3,14	4,43	3,14
T3	3,21	3,36	3,71	4,64	3,71
T4	3,57	2,93	3,36	3,79	3,36
T5	3,50	3,21	3,07	4,14	3,07
T6	3,29	3,50	3,79	3,86	3,64
T7	3,50	3,57	3,57	4,83	3,50
T8	3,50	3,21	3,43	4,00	3,43
T9	3,43	4,57	3,57	4,57	3,43
T10	2,93	3,29	3,21	4,64	3,14
T11	3,21	3,79	3,43	4,29	3,43
T12	2,21	2,14	2,29	1,36	2,57
T13	3,50	3,64	3,43	4,00	3,43
T14	3,29	3,43	3,36	4,43	3,36
T15	4,43	4,86	4,93	3,79	4,71
T16	3,43	4,57	3,57	4,57	3,43

Tabla 9. Perfil sensorial de cataciones realizadas por adultos

Tratamiento	Color	Olor	Sabor	Textura	Aceptabilidad
T1	3,14	3,43	3,79	2,86	3,79
T2	2,79	3,36	3,29	3,50	3,64
T3	2,93	3,29	3,86	2,93	3,79
T4	3,07	3,57	3,57	3,50	3,64
T5	3,36	3,64	3,71	3,14	3,71
T6	3,07	3,57	3,71	3,43	4,00
T7	3,21	3,57	3,79	3,33	3,71
T8	2,79	3,36	3,57	3,50	3,71
T9	3,36	3,00	3,50	3,00	3,57
T10	2,86	3,07	3,86	3,14	3,79
T11	3,21	3,36	3,64	4,14	3,43
T12	2,43	2,29	2,71	1,93	2,36
T13	3,00	3,14	3,43	3,21	3,64
T14	3,00	3,36	3,50	3,21	3,57
T15	4,21	4,43	4,43	3,43	4,64
T16	3,36	3,00	3,50	3,00	3,57

3.6 Color

El tratamiento 15 (62,5 % de agar-agar, 50 % de gelatina, 60 % de pulpa de maracuyá) obtuvo una evaluación promedio de 4,43 por las niñas y 4,21 de adultos considerado como el mejor tratamiento en este atributo como se observa en las Tablas 8 y 9.

La prueba de múltiples rangos de Tukey HSD, con un nivel de confianza del 95 %, determinó que este tratamiento presentó el mejor color según los catadores.

3.7 Olor

El tratamiento 15 (62,5 % de agar-agar, 50 % de gelatina, 60 % de pulpa de maracuyá) obtuvo un 4,86 en la evaluación realizada por las niñas considerándose como el mejor olor, característico a maracuyá, como se observa en la Tabla 8. La catación realizada por personas adultas obtuvo una media de 4,43 en el tratamiento 15 indicándose que es el mejor, observándose en la Tabla 9. La prueba de múltiples rangos de Tukey HSD, con un nivel de confianza del 95%, determinó que este tratamiento es el mejor en olor según los catadores.

3.8 Sabor

La prueba de múltiples rangos de Tukey HSD al 95 % de confianza para sabor determinó que el tratamiento 15 (62,5 % de agar-agar, 50 % de gelatina, 60% de pulpa de maracuyá) es el que más difiere en relación a los demás tratamientos, con una media de 4,93 realizado por catadores infantiles. De igual forma se obtiene una media de 4,43 en el tratamiento 15 que lo realizaron catadores adultos. Por lo tanto, el tratamiento antes mencionado es el que presenta una mayor predilección por parte de los catadores como se observa en las Tablas 8 y 9.

3.9 Textura

El tratamiento 12 (62,5 % de agar-agar, 25 % de gelatina, 45 % de pulpa de maracuyá) obtuvo una media de 1,36 siendo el más blando para a diferencia del tratamiento 7 (43,75 % de Agar-agar, 62,5 % de Gelatina, 52,5 % de de Pulpa de maracuyá) que obtuvo una media 4,83 como el más duro para la preferencia de consumo de los catadores infantiles, como se observa en la Tabla 8. Los catadores adultos nos indican que el tratamiento 11 con una media de 4,14 es el menos aceptado por la dureza de preferencia para el consumo como se lo indica en la Tabla 8. La prueba de múltiples rangos de Tukey HSD con un nivel de confianza del 95%, se comprobó que el tratamiento 15 (62,5 % de Agar-agar, 50 % de Gelatina, 60 % de Pulpa de maracuyá), tiene una textura ni suave ni dura con respecto del resto de los tratamientos que es aceptado como el mejor para el consumo.

3.10 Aceptabilidad

El análisis de varianza efectuado sobre el atributo aceptabilidad, con un nivel de confianza de 95%, se determinó que existen diferencias significativas entre los tratamientos.

La prueba de múltiples rangos de Tukey HSD al 95 % de confianza, se evidenció que el tratamiento 15 (62,5 % de Agar-agar, 50 % de Gelatina, 60 % de Pulpa de maracuyá) tiene una media de 4,71 lo que significa que es el mejor según los catadores infantiles y 4,64 por catadores adultos como se muestra en la Tabla 8 y 9.

3.11 Análisis en el mejor tratamiento

El mejor tratamiento se determinó en función de las características organolépticas, siendo el tratamiento 15 (62,5 % de Agar-agar, 50 % de Gelatina, 60 % de Pulpa de maracuyá) el preferido por jueces. En este se analizó textura, vitamina A y C, recuento microbiológico, composición proximal y tiempo de vida útil.

3.11.1 Análisis de textura

El efecto de sustitución parcial del agar-agar por gelatina, en la textura, se determinó mediante el uso del texturómetro Brookfield las mediciones se analizaron a los 0, 15 y 30 días.

En la Tabla 10 se demuestra que mientras transcurren los días los ciclos de dureza aumentan llegando a 1726 g, esta medida como la fuerza necesaria para lograr una deformación dada en la gomita. La adhesividad se define como el trabajo necesario para superar las fuerzas de atracción entre la superficie de la comida y la superficie de otros materiales con los que el alimento entra en contacto (por ejemplo, la lengua, los dientes, el paladar) la cual disminuye de 3,8 mJ a 0,8 mJ según el transcurso de los días. La cohesividad es la fuerza de los lazos internos que componen el cuerpo del producto (mayor es el valor, mayor será la cohesión) los datos obtenidos en este análisis es una disminución de 1,21 a 0,91. La elasticidad disminuye a 4,27 mm esto indica hasta qué punto puede llegar a expandirse al tener contacto con la boca. La masticabilidad es la energía requerida para masticar un alimento sólido a un estado en el que está listo para la deglución llegando a 65,7 mJ a condiciones normales por 30 días de almacenamiento.

Tabla 10. Análisis de textura del mejor tratamiento durante un mes.

	0 Días	15 Días	30 Días
Ciclo Dureza 1 (g)	879	1211	1726
Ciclo Dureza 2 (g)	1112	1216	1726
Adhesividad (mJ)	3,8	4,5	0,8
Cohesividad	1,21	1,00	0,91
Elasticidad (mm)	11,51	4,63	4,27
Masticabilidad (mJ)	102,4	54,9	65,7

3.11.2 Vitaminas A y C

Se obtuvo 4,76 miligramos por cada 100 gramos de Vitamina C y 0 µm/100 g de Vitamina A, en las gomitas con pulpa de maracuyá, mientras que en la gomita comercial se observó que no posee vitaminas. Esto indica que la pulpa de fruta aportó con Vitamina C, en la gomita desarrollada, 100 g del producto desarrollado podría aportar el equivalente al 10,6 % de la ingestión diaria recomendada de Vitamina C para niños entre 9 y 13 años (NIH, 2011).

3.11.3 Recuento microbiológico

En la Tabla 11 se observa que se determinó un bajo recuento de mohos y levaduras; el conteo de aerobios totales y coliformes totales se encuentran dentro de los requisitos mínimos establecidos de los productos afines según la norma NET INEN 2217: 2012.

La ausencia de microorganismos demuestra que se aplicó un adecuado proceso de elaboración, realizándose a condiciones aceleradas de 35 °C y 95 % de Humedad Relativa.

Tabla 11. Recuento microbiológicos de las gomitas con pulpa de maracuyá

Días	Aerobios Mesófilos Totales (ufc/g)	Mohos (UP/g)	Levaduras (UP/g)	Coliformes Totales (ufc/g)
0	0,5x10 ²	Ausencia	Ausencia	0,5x10 ⁴
1	0,5x10 ²	Ausencia	Ausencia	Ausencia
2	0,5x10 ²	Ausencia	Ausencia	0,5x10 ²
3	0,5x10 ²	Ausencia	Ausencia	Ausencia
4	0,5x10 ²	Ausencia	Ausencia	0,5x10 ²
5	0,5x10 ²	Ausencia	Ausencia	0,5x10 ²

3.11.4 Composición Proximal

En la Tabla 12 se observa que la gomita con pulpa de maracuyá tiene un contenido proteico del 5,11 %, frente al 0,40 % de la gomita comercial, debido al uso de agar-agar. Ninguna de las dos muestras reporta fibra en su composición. La cantidad de ceniza es del 0,25 % en la gomita experimental y 1,60 % en la gomita comercial debido a la presencia de una cantidad mayor de azúcar en su formulación. La cantidad de hidratos de carbono es mayor en las gomitas comerciales diferenciándose de las gomitas experimentales que presentan un 74,74 %. La humedad es 19,9 % que se encuentra en el rango establecido en la Norma NTE INEN 2217 (INEN, 2012).

Tabla 12. Composición proximal gomita comercial vs gomita con pulpa de maracuyá.

	Gomita Comercial Mogul	Gomita con pulpa de maracuyá
Proteína [%]	0,40	5,11
Hidratos de Carbono	95,00	74,74
Fibra [%]	0,00	0,00
Cenizas [%]	1,60	0,25
Humedad [%]	22,50	19,90

3.11.5 Tiempo de vida útil

En el tratamiento 15 (62,5 % de agar-agar, 50 % de gelatina, 60 % de pulpa de maracuyá) se analizó la actividad de agua para obtener el tiempo de vida útil, a condiciones normales 17 °C y 65 % de humedad relativa. Con un valor crítico de 0,85 aw, se determinó que, en estas condiciones, el producto tiene de vida útil 2 meses.

4. CONCLUSIONES

En esta investigación se desarrolló una tecnología de confitería para la elaboración de gomitas con la sustitución parcial de agar-agar por gelatina y pulpa de maracuyá, sin la adición de colorantes y saborizantes artificiales, indicando que el tratamiento 15 (62,5 % de agar-agar, 50 % de gelatina, 60 % de pulpa de maracuyá) es el mejor a criterio de los jueces catadores tanto adultos como niñas de 11 a 13 años. Las gomitas con pulpa de maracuyá presentaron cantidades significativas de vitamina C, mayor porcentaje de proteína, menor cantidad de cenizas y humedad, demostrando que su consumo, es beneficioso para el consumidor.

El tiempo de vida útil resultó ser de 2 meses a condiciones normales de 17 °C y 65 % HR.

REFERENCIAS

Adams M. R., y Moss M. O. (2008). Food Microbiology. 3rd Edition: RSC Publishing.

Álvarez C. (2004). El mercado de la confitería de azúcar en Italia 2004 Retrieved 02/08/2013, from <http://www.caobisco.com/english/pdf/consumptiontrends.pdf>

AOAC. (2000). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists 17th Ed.

Brookfield. (2013). CT3 Texture Analyzer. Instructions Manual No. M/08-371A0708 (pp. 15). Middleborough, Massachusetts (USA): Brookfield Engineering Laboratories Ltd.

Cochran W. G., y Cox G. M. (1990). Diseños experimentales (2ª Edición ed.). Mexico D.F. (México): Ed. Trillas.

Euromonitor International. (2014). Passport Sweet and Savoury Snacks Americas Research and Markets. London (UK).

Feedpack News. (2014). El mercado global de golosinas crece con fuerte dinámica. Retrieved 06/11/14, from <http://www.feedpacknews.com/sectorial/maquinaria/2011/09/el-mercado-global-de-golosinas-crece-con-fuerte-dinamica>

INEN. (1975). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 0162. Mantequilla. Determinación de la acidez titulable.

INEN. (1980). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 0265. Azúcar. Determinación de la humedad. (Método de rutina).

INEN. (1985). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 0380. Conservas vegetales.. Determinación de sólidos solubles. Método refractométrico.

INEN. (2012). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2217. Productos de confitería, caramelos, pastillas, grageas, gomitas y turrone. Requisitos.

NIH. (2011). Ingesta diaria de Vitamina C recomendada Retrieved 06/11/14, from <http://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminC-DatosEnEspanol/>

Paltrinieri G., Figuerola F., y Rojas L. (1997). Technical manual on small-scale processing of fruits and vegetables FAO (Ed.) Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/x0209e/x0209e07.htm>

Ranken M. (1993). Manual de Industria de los Alimentos (2ª Edición ed.). Zaragoza (España): Editorial Acirbia S.A.

OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE FABRICACIÓN DE QUESO FRESCO CON SUSTITUCIÓN PARCIAL DE REQUESÓN.

OPTIMIZATION OF FRESH CHEESE PROCESSING WITH COTTAGE CHEESE PARTIAL REPLACEMENT

M. R. Moreno*

Universidad Técnica de Ambato (UTA), Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos,
Av. Los Chasquis y Río Payamino, Ambato, Ecuador.

Artículo recibido: 30/10/14

Artículo aceptado: 11/11/14

RESUMEN

La finalidad de este trabajo consistió en optimizar el rendimiento de la producción de requesón a partir de lactosuero, mediante la precipitación de la mayor cantidad de proteínas lactoséricas (requesón) presentes en el mismo. Se realizaron 24 tratamientos experimentales en donde se utilizaron tres factores de estudio, la acidez (°D), temperatura (°C) y tiempo (min). Los mejores resultados se obtuvieron al utilizar ácido cítrico hasta obtener una acidez de 50 °D en el lactosuero y la cocción a fuego directo hasta llegar a la temperatura de ebullición (93 °C), mantenida por un tiempo de 15 minutos, obteniendo una cantidad máxima de requesón de 4.2 g/100 mL de lactosuero.

La evaluación organoléptica del queso fresco con 30 % de requesón y sin sustitución de requesón permitió concluir que los catadores no encontraron diferencias significativas en cuanto al sabor, textura y la apariencia general de los quesos analizados.

La vida útil de los quesos frescos con y sin sustitución de requesón resultó de 10 y 11 días de vida útil respectivamente, presentando el queso con sustitución de requesón una actividad de agua mayor a la del queso fresco sin sustitución, que favoreció una mayor proliferación de mohos y levaduras.

El análisis de costos permitió determinar que la elaboración de queso fresco con 30 % de requesón resultó, frente a la elaboración de queso fresco normal, 0.51 centavos más barato por cada 50 L de leche procesados.

Palabras clave: Lactosuero, requesón, queso fresco

ABSTRACT

The purpose of this work was to optimize the production yield of curd from whey by precipitation as much lactoseric protein (cottage cheese) present in it. 24 where three experimental treatments study factors, acidity (°D), temperature (°C) and time (min) were used were made. The best results were obtained when using citric acid until obtaining an acidity of 50 °D in the whey and direct fired cooking to reach the boiling point (93 °C), maintained for a time of 15 minutes, obtaining a maximum amount of curd 4.2 g / 100 ml of whey.

The sensory evaluation of cheese with 30 % curd cottage cheese without replacing allowed concluding that the tasters found no significant differences in taste, texture and overall appearance of the cheeses analyzed.

The shelf life of fresh cheeses and curd proved without replacing 10- and 11-day shelf life, respectively, wherein the cheese curd substitution activity greater than that of fresh cheese without substitution, which favored water increased proliferation molds and yeasts.

Cost analysis allowed us to determine that the processing of fresh cheese curd was 30 %, compared to developing normal cheese, 0.51 cents cheaper per 50 L of processed milk.

Key words: Whey, cottage cheese, fresh cheese.

1. INTRODUCCIÓN

Según el CPM (2004), comúnmente el lactosuero es considerado como un producto contaminante que es generado en las industrias queseras. En ocasiones el suero es vertido directamente en los ríos u otros cuerpos de agua por no ofrecer ningún beneficio económico. Esta práctica causa serios problemas de contaminación en dichos efluentes acuíferos ya que genera una alta Demanda Biológica de Oxígeno (DBO) y un alto contenido de sólidos totales en suspensión.

El lactosuero o suero lácteo es la fase acuosa que se separa de la cuajada en el proceso de elaboración de los quesos (Valencia E. y Ramírez M. L., 2009). El suero lácteo presenta importantes contenidos de proteína, grasa, lactosa y calcio (Miranda O. et al., 2009).

En relación al contenido proteico, las proteínas séricas de la leche son proteínas globulares (Benítez R. et al., 2008). Entre ellas, las presentes en mayor cantidad son la β -lactoglobulina (β -LG) y la α -lactoalbúmina (α -LA) y como constituyentes menores se encuentran la lactoferrina, la lactoperoxidasa, las inmunoglobulinas y los glicomacropéptidos, entre otros (Alvarado C. y Guerra M., 2010; Baró L. et al., 2001).

El requesón es un precipitado de las proteínas séricas, albúmina y lacto globulina, que atrapan en su estructura a la lactosa y a la materia grasa remanentes en el suero de quesería (FAO, 2011).

Según Scott (1991), el requesón es uno de los múltiples tipos de queso que existen. Sin embargo cuando el ingrediente principal en la elaboración de requesón es el lactosuero la coagulación de la proteína (lacto globulina) se realiza mediante la adición de una sustancia ácida y el aumento de temperatura simultáneamente.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Manufactura del queso fresco con sustitución parcial de requesón.

El queso fresco con sustitución parcial de requesón se elaboró en el laboratorio de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad técnica de Ambato. Para esto se siguió el siguiente procedimiento, la leche cruda de vaca se sometió al proceso de formación de la "cuajada" por calentamiento y adición de cuajo comercial. Una vez formada la "cuajada", se recogió el suero al realizar sucesivos cortes de dicha cuajada en un recipiente adecuado para luego ser sometido a un proceso de calentamiento y acidificación con el fin de elaborar el requesón. Finalmente después de obtener el requesón se procedió a mezclarlo parcialmente en el queso fresco ya realizado anteriormente se colocó en moldes para darle la forma característica y se empacó en fundas de polietileno de baja densidad los cuales se refrigeró a 5 °C.

2.2 Muestras

Para el desarrollo de este estudio se utilizó leche cruda obtenida de una hacienda ubicada en la ciudad de Latacunga en el sector Salache. El suero fue obtenido de una planta quesera artesanal ubicada en el sector Patután, igualmente de la ciudad de Latacunga.

Para la obtención de requesón se prepararon un total de 24 tratamientos experimentales (ver Tabla 1), en donde cada una de las muestras fue acidificada con ácido cítrico de 35 a 50 grados Dornic (°D) en intervalos de 5 °D. Además se evaluaron condiciones de temperatura de 80, 85 y 93 °C por un lapso de tiempo de 10 y 15 min. Todo esto se realizó con el fin de obtener la mayor cantidad de proteína coagulada para luego ser sustituida en el queso fresco.

Tabla 1. Factores y Niveles detallados del experimento. A*: acidez en el suero (°D); B*: temperatura (°C); C*: tiempo (min)

Factores	Niveles
A*	a ₀ : 35
	a ₁ : 40
	a ₂ : 45
	a ₃ : 50
B*	b ₀ : 80
	b ₁ : 85
	b ₂ : 94
C*	c ₀ : 10
	c ₁ : 15

2.3 Evaluación Sensorial

En cuanto a la elaboración de queso fresco con la sustitución parcial de requesón se realizaron cuatro tratamientos experimentales: T0: 0 % de requesón + 100 % de cuajada; T1: 10 % de requesón + 90 % de cuajada; T2: 20 % de requesón + 80 % de cuajada y T3: 30 % de requesón + 70 % de cuajada.

Para analizar las características organolépticas del queso con sustitución se dispuso de una hoja de cata para catadores no entrenados la cual presento parámetros de color, olor, sabor y textura, en donde cada parámetro fue analizado según su preferencia como Disgusta mucho, Disgusta poco, Ni gusta ni disgusta, Gusta poco, y Gusta mucho, calificadas con 1, 2, 3, 4 y 5 puntos respectivamente.

Además se utilizó un diseño de bloques completamente al azar en donde los catadores fueron los bloques, porque estos son afectados por la naturaleza de las personas dependiendo del sexo, edad y cultura, entre otros, siendo conveniente aislar este factor mediante la asignación aleatoria de las unidades experimentales, con el fin de determinar la aceptabilidad del producto final.

2.4 Análisis microbiológico.

El análisis microbiológico se aplicó al suero lácteo, leche cruda y al queso fresco con y sin sustitución. Se analizaron Coliformes totales, *Escherichia coli*, Mohos y levaduras. Esto se hizo mediante placas Petrifilm de la marca Compact Dry.

Para la determinación de la vida útil y estabilidad frente al desarrollo de los microorganismos alterantes, se trabajó con queso fresco sin sustitución de requesón el cual se utilizó como testigo.

Los análisis microbiológicos consistieron en tomar muestras de 1 mL de suero lácteo y leche cruda y se diluyeron en agua peptonada al 0,1 % hasta tener una dilución 10^{-2} , por triplicado.

Para los quesos realizados se pesaron 10 g de muestra, se diluyeron en 90 mL de agua peptonada al 0,1 % y se homogeneizaron en una licuadora por 2 minutos. Se prepararon las diluciones 10^{-2} en agua peptonada al 0,1 % y se sembraron con 1 mL de muestra diluida. Las placas para mohos y levaduras se incubaron a 25 °C por un lapso de 72 horas. Para la determinación de Coliformes totales y *Escherichia coli* se debe incubó a 35 °C por 24 horas. Finalmente se contaron las colonias y los resultados obtenidos se expresaron como UFC/mL.

2.5 Estudio de vida útil.

Para determinar el tiempo de vida útil del queso fresco con y sin sustitución de requesón se utilizará las ecuaciones de regresión lineal con un modelo de aproximación de crecimiento microbiano de orden 1, de acuerdo a la Ecuación 1 (Labuza T. P., 1982).

$$\log C = A \times t + B$$

Ecuación 1

En donde,

log C: logaritmo del número máximo de microorganismos permitidos en las normas
A: pendiente obtenida de los datos de tiempo y log C
t: tiempo de vida útil en días
B: indica el punto de corte

Para la obtención del log C se reemplazaron los valores de concentración máxima permitida de crecimiento microbiano de mohos y levaduras registrados en las normas para la elaboración de queso fresco NTE INEN 1528 (INEN, 2012) y NTC 750 (ICONTEC, 2009).

2.6 Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza multifactorial (ANOVA) basándose en LSD de Fischer, utilizando un nivel de confianza del 95 %. Los datos fueron procesados en el programa estadístico InfoStat para Windows.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se presenta la cantidad de los sólidos recuperados (requesón) para cada tratamiento experimental, expresados por cada 100 mL de lactosuero. Estos datos variaron dependiendo del aumento de la acidez, la temperatura y el tiempo de calentamiento. De entre el conjunto de tratamientos, el tratamiento 24 fue el que obtuvo mayor cantidad de sólidos alcanzando 4,2 gramos de requesón por 100 mL de lactosuero.

Los modelos matemáticos para determinar la vida útil del queso fresco con y sin sustitución de requesón indicaron que dichos productos alcanzaron una vida útil de 10 y 11 días respectivamente. La diferencia de un día se debió a que el queso con sustitución de requesón presentó una actividad de agua mayor a la del queso fresco sin sustitución.

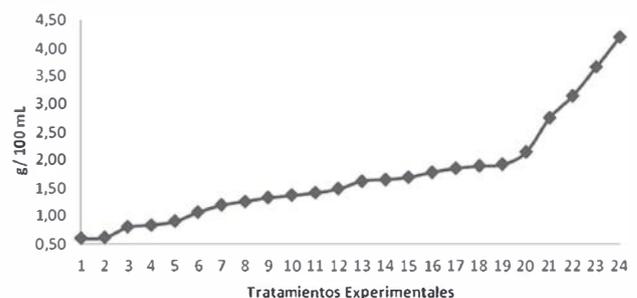


Figura 1. Cantidad de sólidos recuperados de 100 ml de lactosuero en cada tratamiento experimental.

La determinación de la vida útil se basó en la proliferación de mohos y levaduras permitidas en las normas. Las características organolépticas presentes en el queso fresco con 30 % de requesón y un queso fresco normal, con un nivel de confianza del 95 %. Al observar la Figura 2 se puede observar que, a partir del día 8 de almacenamiento, se encontró un recuento alto de mohos y levaduras en el queso fresco con 30 % de requesón.

Probablemente esto sucedió debido a la más alta actividad de agua de dicho queso, ya que al mezclar los dos componentes el requesón liberó más cantidad de agua lo cual ayudó a la proliferación de los mohos y levaduras.

A nivel de las características sensoriales, se puede apreciar (Tabla 2) que no existieron diferencias significativas entre el queso fresco de control y el queso fresco con un 30 % de requesón, en cuanto al color, olor, sabor y textura.

Tabla 2. Determinación de las diferencias significativas en las características organolépticas

Características Organolépticas	P-valor
Color	0,7946
Olor	0,1387
Sabor	0,5411
Textura	0,0586

Si $p < 0,05$, existen diferencias significativas al 95 % entre el queso testigo y el queso con sustitución parcial de requesón

33

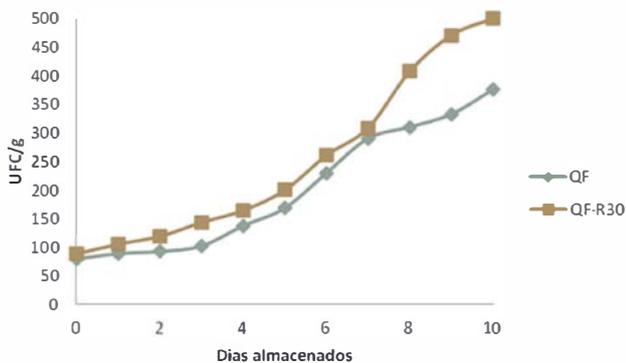


Figura 2. Curva de crecimiento de mohos y levaduras teniendo en cuenta la cantidad máxima de 500 UFC/g en la NTC 750 en QF (queso fresco) y en QF-R30 (queso fresco con 30 % de requesón), almacenados a 5 °C

4. CONCLUSIONES

En la precipitación de las proteínas del lactosuero no se debe exceder el tiempo de calentamiento (15 min) ni la acidez (50 °D), caso contrario el requesón tendrá un sabor y textura desagradable.

Se concluye que el mejor tratamiento de los estudiados para obtener la mayor cantidad de requesón el lactosuero resultó aquel en el que se acidificó hasta 50 °D, se calentó a fuego directo hasta llegar a una temperatura de 93 °C y se mantuvo por 15 minutos con agitación continua, evitando que se quemase la proteína coagulada.

El requesón obtenido se pudo utilizar hasta un 30 % en la elaboración de un queso fresco normal ya que no

se apreció diferencia alguna en las características organolépticas de color, olor, sabor y textura propios de dicho producto.

El queso fresco reemplazado con requesón al 30% presentó una vida útil de 10 días que le hace apto para su comercialización, aunque resulte más corto que la vida útil del queso fresco control.

REFERENCIAS

Alvarado C., y Guerra M. (2010). Lactosuero como fuente de péptidos bioactivos. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 23(1), 42-49.

Baró L., Jiménez J., Martínez-Férez A., y Bouza J. J. (2001). Péptidos y proteínas de la leche con propiedades funcionales. *Ars Pharmaceutica*, 42(2-3), 135-145.

Benítez R., Ibarz A., y Pagan J. (2008). Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 42(2), 227-236.

CPM. (2004). Estudio de Pre-Factibilidad para la instalación de una planta procesadora de bebidas para infantes a base de lactosuero. Nicaragua: Centro de Producción más limpia de Nicaragua. Departamento de Asuntos Económicos y Sociales de las Naciones Unidas (UNDESA).

FAO. (2011). *Codex Alimentarius. Leche y Productos Lácteos* (2ª ed.). Roma (Italia).

ICONTEC. (2009). NTC 750. Productos lácteos. Queso. 4ª Actualización (pp. 16): Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación.

INEN. (2012). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1528. Norma general para quesos frescos no madurados. Requisitos. (pp. 11).

Labuza T. P. (1982). *Shelf-life Dating of Foods*. Westport, Connecticut (USA): Nutrition Press.

Miranda O., Ponce I., Fonseca P. L., Cutiño M., Díaz R. M., y Cedeño C. (2009). Características físico-químicas de sueros de queso dulce y ácido producidos en el combinado de quesos de Bayamo. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 19(1), 21-25.

Scott R. (1991). *Fabricación de queso*. Zaragoza (España): Editorial Acribia.

Valencia E., y Ramírez M. L. (2009). La industria de la leche y la contaminación del agua. *Elementos*, 16(73), 27-31.

COMPARACIÓN DE LOS NIVELES DE GRASA, ALCALOIDES Y POLIFENOLES TOTALES EN ALMENDRAS DE CACAO NACIONAL FINO DE AROMA DE DIFERENTES ZONAS DEL LITORAL ECUATORIANO

COMPARISON OF FAT, ALKALOIDS AND TOTAL POLYPHENOL LEVELS IN FINE COCOA BEANS FROM DIFFERENT ECUADORIAN COASTAL AREAS

C. Camino^{1*}, S. Espín², I. Samaniego², C. Carpio¹

¹Universidad Técnica de Ambato (UTA), Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Av. Los Chasquis y Río Payamino, Ambato, Ecuador.

²Departamento de Nutrición y Calidad, Estación Experimental Santa Catalina, Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) Panamericana Sur Km 1, Vía Tumbillo, Sector Cutuglagua, Quito (Ecuador)

Artículo recibido: 15/05/14

Artículo aceptado: 15/11/14

RESUMEN

La finalidad del presente estudio fue evaluar el contenido de los componentes químicos no volátiles (grasa, alcaloides y polifenoles) en almendras de cacao nacional recolectadas en las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos, las mismas que fueron fermentadas por cuatro días en cajas de laurel y secadas al sol. Los resultados obtenidos mostraron que el contenido de polifenoles totales varió en un rango de 33.55 a 62.89 mg ácido gálico/g cacao desengrasado, los alcaloides presentaron contenidos que fluctuaron entre 1.52 y 2.29 % para el caso de la teobromina y de 0.20 a 0.40 % para la cafeína, el contenido promedio de grasa obtenido en las muestras analizadas fue del 45.2 %. La relación teobromina/cafeína (T/C) permitió ubicar al cacao nacional de estas provincias dentro de la clasificación de los cacaos trinitarios con valores que varían entre 5.56 y 7.86, confirmando así la calidad del cacao ecuatoriano como fino de aroma y su prestigio en la industria chocolatera.

Palabras clave: cacao Nacional, polifenoles, alcaloides, grasa, fermentación

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the content of non-volatile chemical compounds (fat, alkaloids and polyphenols) in national cocoa beans harvested in some Ecuadorian provinces (Guayas, Manabí and Los Ríos), which were fermented for four days in wooden fermentation boxes and sun dried. The results showed that total polyphenol content varied in the range of 33.55 to 62.89 mg gallic acid/g defatted cocoa, alkaloids exhibit fluctuations between 1.52 and 2.29 % for theobromine and they ranged from 0.20 to 0.40 % for caffeine, the average fat content in the analyzed samples was 45.2 %. The theobromine/caffeine (T/C) ratio ranging from 5.56 to 7.86 allowed national cocoa beans to be classified as Trinitarians, thus confirming the superior quality of Ecuadorian cocoa worldwide known as fine or flavor cacao and its prestige within the chocolate industry.

Key words: National cocoa, polyphenols, alkaloids, fat, fermentation.

1. INTRODUCCIÓN

Ecuador se ubica entre los 10 principales productores de cacao a nivel mundial con una producción de 85.000 T/año. De acuerdo con ANECACAO (2011) las exportaciones de cacao en grano y semi-elaborados representaron 494 millones de dólares de divisas para el país en el año 2011. A nivel mundial se conocen cacaos tipo: Criollo, Forastero Amazónico, Trinitario y Nacional del Ecuador denominado fino de aroma. Ecuador es el líder mundial en la producción y exportación (61% del consumo global) de cacao fino de aroma (también llamado cacao de "Arriba") que posee una calidad única en el mundo debido a su aroma floral muy perceptivo. Actualmente, la mayoría de plantaciones son de cacao híbrido llamado Nacional x Trinitario muy apetecido por la industria chocolatera, especialmente europea (Ramírez T. y Paredes N., 2010; Rodríguez M., et al., 2010).

La composición química de los granos de cacao depende del tipo de cacao, origen geográfico, grado de madurez, calidad de la fermentación y secado. La manteca es uno de los componentes que definen la calidad del grano tanto para la industria chocolatera como la cosmética y farmacéutica.

El contenido de grasa no varía durante la fermentación y corresponde al $48,8\% \pm 3,21\%$ (Álvarez F., 2008; Espín S., 2006; Sukha D. A., et al., 2007).

El cacao es también extraordinariamente rico en polifenoles (Oracz J., et al., 2013). Estos compuestos se almacenan en las células pigmentarias del cotiledón y según la cantidad de antocianinas presentes otorgan al cacao un color blanco a violeta.

El proceso de poscosecha del cacao incluye dos fases: la fermentación y el secado (Calderón L., 2002). Ambos influyen sobre el desarrollo del sabor y aroma en el chocolate, independientemente del tipo u origen del cacao y determinan la calidad del grano y su valor comercial en el mercado internacional.

Durante la fermentación se desarrollan el sabor y aroma del producto (Rodríguez M., et al., 2010). Una serie de reacciones enzimáticas y bioquímicas en el interior del cotiledón degradan las células, producen la muerte del embrión y transforman las proteínas y polisacáridos en aminoácidos y azúcares simples, conocidos como los precursores del aroma a chocolate. En esta etapa, los polifenoles son convertidos en polímeros de alto peso molecular, la mayoría de tipo taninos insolubles (Samaniego I., 2012). La concentración de polifenoles disminuye durante la fermentación por difusión en los lixiviados de la fermentación, oxidación y polimerización con las proteínas.

Este fenómeno es importante porque afecta la calidad del cacao para la elaboración de chocolate, ya que los polifenoles son responsables del gusto astringente y

amargo. Diversos estudios realizados con muestras de cacao Nacional muestran que el contenido de polifenoles disminuye en un 44-51 % durante la fermentación (Espín S., 2006; Samaniego I., 2012; Sukha D. A., et al., 2007).

La teobromina y la cafeína, son otros compuestos presentes en el cacao. Pertenecen a la familia de las purinas y representan más del 99 % de los alcaloides presentes en la almendra. Estos compuestos disminuyen durante la fermentación a niveles del 20-25 %. La relación teobromina/cafeína es considerada un parámetro que permite discriminar el origen del cacao y presenta valores de 2,2-6,9 para genotipos de cacao producidos en el Ecuador (Espín S., et al., 2007). Después de la fermentación, las almendras contienen alrededor de 55 % de humedad y para almacenarlas requieren ser secadas, ya sea de forma natural, al sol o de manera artificial (Rodríguez et al., 2010) hasta niveles del 7 % de humedad. Muchas de las reacciones iniciadas en la fermentación continúan durante el secado. Algunos estudios (Efraim P., et al., 2010; Hii C. L., et al., 2012; Jinap S., et al., 1994) demuestran que en esta fase se producen variaciones en el contenido de ácidos grasos volátiles, compuestos fenólicos totales, de ahí la importancia de que este proceso se realice de forma adecuada.

El objetivo de este trabajo fue determinar si existe diferencias en el contenido de grasa, alcaloides y polifenoles totales entre el Cacao Fino de Aroma producido en las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos para comparar su calidad y promover su comercialización.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Muestras de cacao.

Para el presente estudio, en colaboración con los técnicos de los programas de Cacao y Café de las Estaciones Experimentales de Portoviejo y Litoral Sur del INIAP, se colectaron muestras de cacao fino de aroma directamente en las fincas de los productores, en las provincias de mayor producción del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí y Los Ríos).

2.2 Técnica de muestreo.

Para los fines de la presente investigación, las muestras se seleccionaron aplicando la técnica de muestreo aleatorio estratificado con una distribución de Neyman. El estrato 1 estuvo conformado por productores de cacao Nacional que participan con 1,0 a 6,0 hectáreas y, el estrato 2 por productores que participan con 6,1 a 12,0 hectáreas.

2.3 Procedimiento de muestreo.

Se seleccionaron dentro de cada provincia 3 cantones productores de cacao Nacional fino de aroma en función del mapa cacaotero nacional, en cada cantón

se identificaron al azar 5 fincas de productores en función de los estratos establecidos y se procedió a la toma de muestras. Las muestras estuvieron constituidas de 20 frutos de cacao por duplicado es decir un total de 40 frutos, para el muestreo se escogió al azar 20 árboles de cacao Nacional (complejo Nacional x Trinitario) y se colectó 2 frutos por árbol, para obtener aproximadamente 1 kg de cacao fermentado y seco por muestra.

2.4 Proceso de fermentación y secado.

Las almendras de las muestras de cacao colectadas en fruto de las diferentes provincias productoras se fermentaron en la Estación Experimental Litoral Sur, aplicando la técnica de micro fermentación en cajas de madera de laurel de 120x120x80 cm (alto x ancho x profundidad) con capacidad de 120 kg de masa. Se colocaron 12 muestras por cajón, con una remoción a las 48 horas y un tiempo de fermentación establecido para cacao Nacional (Complejo Nacional x Trinitario) de cuatro días. Posteriormente, se secó al sol en tendales de cemento, hasta una humedad en el grano de aproximadamente 7 %. Las muestras fermentadas y secas se transportaron al Laboratorio de Servicio de Análisis e Investigación en Alimentos LSAIA del Departamento de Nutrición y Calidad de la Estación Experimental Santa Catalina.

2.5 Preparación de la muestra

Las almendras de cacao, fermentadas y secas, fueron molidas en un molino ultra centrífugo RETCH Zm 200 y tamizadas a través de una malla de 42 mesh para obtener un tamaño de partícula de 355 μm , a fin de asegurar la homogenización en la toma de muestras para los análisis de laboratorio. Las muestras fueron almacenadas a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su análisis.

Reactivos. Metanol grado reactivo al 99,5 %, Ácido Gálico Monohidratado Sigma G 8647, Reactivo de Folin & Ciocalteu Merck 1.090011.0500, Carbonato de Sodio 99,5% Fluka 71350, Metanol grado HPLC marca Fisher A 452-4, Cafeína Anhidra 99,9 % Sigma C-0750, Teobromina Anhidra 99,9 % Sigma T-4500, Teofilina Anhidra 99.9 % Sigma T-1633, Éter de Petróleo (rango de ebullición de 40 a 60 $^{\circ}\text{C}$).

2.6 Métodos de análisis.

Los análisis fueron realizados por duplicado. El contenido de grasa, alcaloides y polifenoles totales de las muestras de cacao fermentadas y secas se analizó utilizando los métodos del Laboratorio de Servicio de Análisis e Investigación en Alimentos, y los principios de los métodos se describen a continuación:

2.6.1 Extracción de grasas de las almendras de cacao.

La materia grasa del polvo de cacao fue extraída con éter de petróleo mediante extracción continua en Soxhlet por 12 horas, se recuperó el solvente del extracto etéreo y se secó la grasa en una estufa a 105 $^{\circ}\text{C}$ por 2 horas, se enfrió en un desecador y se pesó (AOAC, 2005a).

2.6.2 Determinación de polifenoles totales.

Los polifenoles totales del polvo de cacao desengrasado fueron extraídos con una solución acuosa de metanol al 70 %, mediante agitación magnética continua por 45 minutos de 1 g de muestra, el extracto obtenido se filtró a través de papel Whatman N° 4, se tomó una alícuota del mismo y se realizó una reacción colorimétrica con el reactivo de Folin & Ciocalteu con el cual se obtuvo una coloración azul, que fue cuantificada en un espectrofotómetro UV-VIS a 760 nm (Cross E., et al., 1982).

2.6.3 Alcaloides (teobromina y cafeína)

La extracción de cafeína y teobromina en muestras de cacao previamente molidas y desengrasadas, se realizó se realizó con agua bidestilada en ebullición por 45 minutos. El extracto obtenido fue filtrado en un balón volumétrico y aforado con agua bidestilada a 100 ml, una alícuota del extracto se pasó por membrana Millipore de 0,22 μm y se analizó por HPLC (Agilent 1200), provisto de una columna de fase reversa C18 ODS II (150x4,6 mm I.D) precolumna del mismo material (10x4.6 mm I.D) detector UV/VIS a 273nm. La fase móvil utilizada fue metanol:agua (25:75 v/v) con un flujo de 1 ml/minuto bajo condiciones isocráticas de elución (AOAC, 2005b).

2.7 Factores en estudio

Para la presente investigación se consideran como factores en estudio a las provincias de mayor producción de cacao fino de aroma del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí y Los Ríos) como se muestra en la Tabla 1.

2.8 Análisis estadístico.

En la primera etapa de análisis se utilizó un diseño jerárquico para determinar si existe diferencia significativa entre provincias, considerando como factor principal a las provincias y las fincas como un anidamiento dentro de cantón. El efecto de las medias por nivel de cada factor se evaluó mediante la prueba de Tukey con $\alpha=0,05$. En la segunda etapa de análisis se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) para determinar si existe diferencia significativa dentro de cada provincia.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Polifenoles.

El contenido promedio de polifenoles totales en las muestras de cacao Nacional de las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos, fermentado por cuatro días, fue de 45,5 mg ácido gálico/g cacao desengrasado, con un coeficiente de variación de 26,41 % (Figura 1).

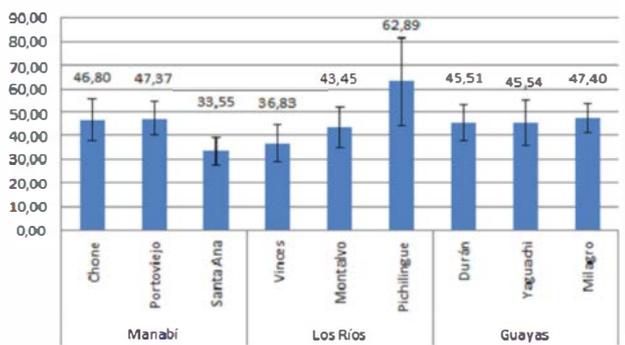


Figura 1. Contenido promedio de polifenoles totales (mg ácido gálico/g cacao desengrasado) en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí y Los Ríos).

En base a los resultados obtenidos en el análisis de varianza se estableció que no existe diferencia estadística significativa entre provincias ($p > 0,05$) en el contenido de polifenoles totales. Este análisis permite establecer que la variación en el contenido de polifenoles no se atribuye al origen del cacao sino que este parámetro es influenciado directamente por la fermentación, debido a los procesos de oxidación y difusión que sufren los polifenoles (Wollgast J. y Anklam E., 2000).

De igual manera con la finalidad de comparar los resultados del contenido de polifenoles en los cantones dentro de cada provincia, el análisis de varianza por provincia mostró que Manabí y Los Ríos tienen diferencia significativa ($p < 0,05$) dentro de sus cantones, atribuido a factores como la ubicación de la muestra dentro del cajón donde se fermenta la masa de cacao, que genera condiciones diferentes de temperatura y oxígeno para que se desarrollen los procesos metabólicos de los microorganismos.

3.2 Grasa.

El contenido graso varía entre 43.84 y 48.85 % en almendras de cacao Nacional para las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos, con un promedio general de 45,2 % y un coeficiente de variación de 4,77 %. Los valores determinados son inferiores por debajo del valor promedio que se reporta para los cacaos procedentes de Ghana 52,7 % (Espín S., 2006).

La Figura 2 muestra que existe diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) en el contenido de grasa entre provincias. Esto permite establecer que la variación en el contenido de grasa mantiene relación con el origen del cacao, debido a que la grasa no varía durante la fermentación y el porcentaje de variabilidad por efectos de las provincias es de 19,14 % y, la desviación estándar por efectos aleatorios de 1,19. Sin embargo, este parámetro no es considerado como un factor discriminante entre cacaos.

El análisis de varianza por provincia no mostró diferencia estadística significativa ($p > 0,05$) en el contenido de grasa dentro de Guayas y Manabí. En Los Ríos, el contenido graso del cacao de los cantones Vinces (45,15 %) y Montalvo (44,95 %) no son significativamente diferentes, pero el cacao del cantón Pichilingue presentó un mayor contenido promedio de grasa, 48,85 %, con relación a las muestras de los cantones Vinces y Montalvo, siendo esta diferencia estadísticamente significativa con respecto a estos cantones.

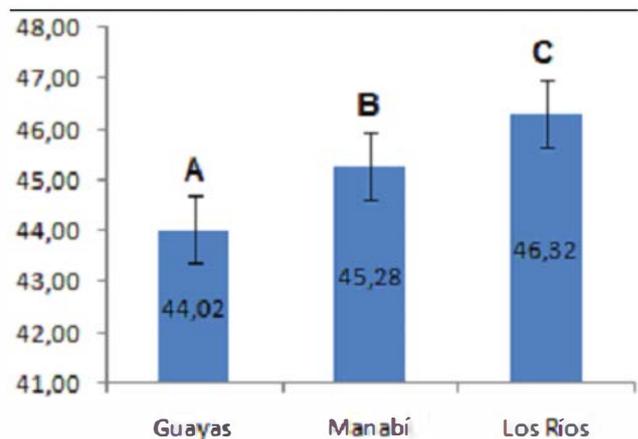


Figura 2. Contenido promedio de grasa (%) en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos). Letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$)

3.3 Teobromina.

En la Figura 3 se observa el cromatograma del extracto acuoso en agua bidestilada de las almendras del cacao, en el cual se muestra la separación de metilxantinas con un tiempo de retención de 3,28 min para la teobromina y 8,48 min para la cafeína.

El contenido de teobromina varía entre 1,52 y 2,29 % en almendras de cacao nacional para las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos, con un promedio general de 1,72 % y un coeficiente de variación de 18,54 %.

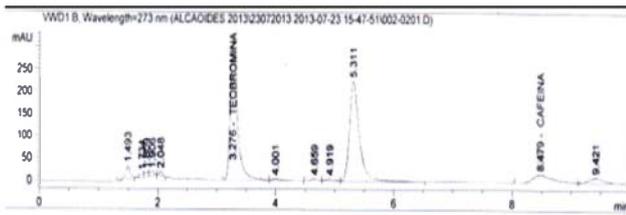


Figura 3. Cromatograma de purinas de cacao Nacional

En la Figura 4 se observa que existe diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) en el contenido de teobromina entre provincias. Esta diferencia es atribuida en mayor proporción al grado de hibridación de las muestras, condiciones agroclimáticas y al proceso de difusión que tiene la teobromina durante la fermentación.

El análisis de varianza dentro de la provincia fue significativo ($p < 0,05$) para la provincia de Los Ríos. El cantón Pichilingue presentó un mayor contenido promedio de teobromina (2,29 %) con relación al cacao de los cantones Vinces y Montalvo cuya diferencia es estadísticamente significativa.

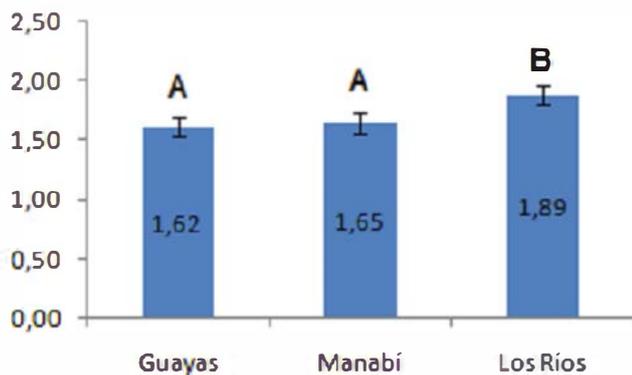


Figura 4. Contenido promedio de teobromina (%) en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos). Letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$).

3.4 Cafeína.

El contenido de cafeína varía entre 0,20 y 0,40 % en almendras de cacao nacional para las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos, con un promedio general de 0,28 % y un coeficiente de variación de 29,38 %. La variabilidad en el contenido de cafeína es mayor a la obtenida en la teobromina, si se toma en cuenta que las purinas no sufren transformaciones químicas y evolucionan en forma similar durante la fermentación, se podría decir que la cafeína tiene un comportamiento diferente relacionado al tipo de cacao (Espín et al., 2007).

La Figura 5 muestra que existe diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) en el contenido de cafeína en las muestras de cacao para las tres provincias de mayor producción del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos).

El análisis de varianza dentro de provincia, mostró resultados similares a los obtenidos para la grasa y teobromina, donde Los Ríos tiene diferencia estadística significativa entre sus cantones ($p < 0,05$). El cantón Vinces presenta el menor contenido promedio de cafeína que fue de 0,20 % con relación a los cantones Pichilingue y Montalvo diferencia que resultó ser estadísticamente significativa con respecto a estos cantones.

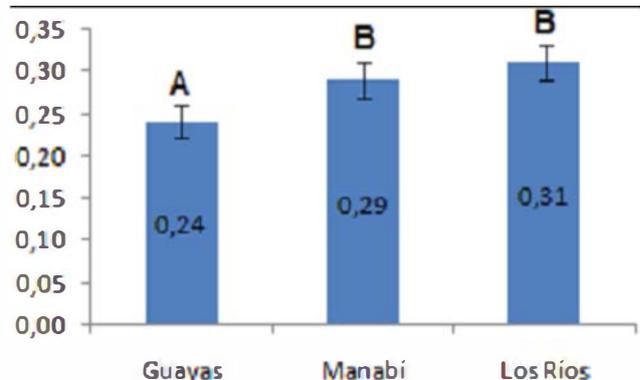


Figura 5. Contenido promedio de cafeína (%) en el cacao de tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí, Los Ríos). Letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$)

3.5 Relación teobromina/cafeína.

La relación teobromina/cafeína varía entre 5,56 y 7,86 en almendras de cacao nacional para las provincias en estudio, con un promedio general de 6,39 y una variación de 18,38 %.

Los resultados de la relación teobromina/cafeína permiten tener una idea del origen de los cacaos, estudios realizados por Chevalley (1991) muestran que esta relación varía de una especie a otra y constituye una herramienta para discriminar cacaos por su origen. Los resultados obtenidos ubicaron al cacao nacional del Litoral Ecuatoriano dentro de los cacaos Trinitarios (Figura 6).

El análisis de varianza entre provincias mostró que existe diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) en la relación T/C (Figura 7), estos resultados son una evidencia del grado de hibridación que se ha formado desde la llegada de los cacaos trinitarios al Ecuador hace más de 90 años y, la influencia de las condiciones agroclimáticas específica de cada provincia.

El análisis de varianza por provincia no mostró diferencia estadística significativa ($p > 0,05$) en la relación T/C dentro de Guayas y Manabí. En Los Ríos el cacao de los cantones Pichilingue y Montalvo no son significativamente diferentes, pero el cacao del cantón Vinces presenta la mayor relación T/C que fue de 7,86 con relación a los cantones Pichilingue (5,74) y Montalvo (5,69) siendo esta diferencia estadística significativa con respecto a estos cantones.

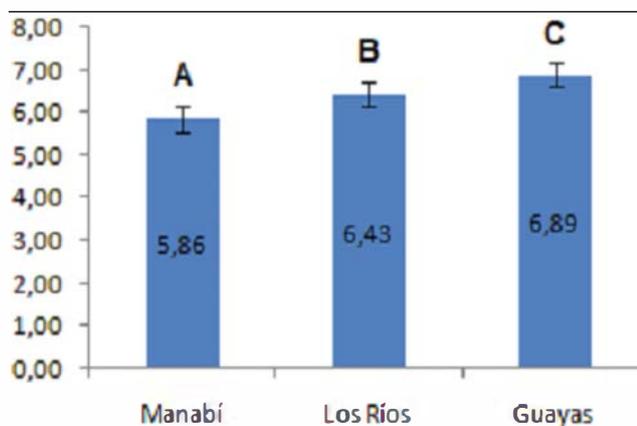


Figura 6. Promedio de la relación T/C en tres provincias del Litoral Ecuatoriano (Guayas, Manabí y Los Ríos). Letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$)

4. CONCLUSIONES

La caracterización del cacao nacional en Guayas, Manabí y Los Ríos permitió establecer que existe un posible efecto de las condiciones agroclimáticas sobre sus componentes químicos no volátiles y, un cierto grado de hibridación formado durante los últimos años desde su expansión por el Río Guayas.

El contenido de polifenoles totales no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$) entre provincias lo que sugiere que el contenido de polifenoles es influenciado directamente por el tratamiento homogéneo en el proceso de fermentación.

El contenido graso permite inferir que el cacao nacional fino de aroma presenta menores contenidos de grasa en relación a otros grupos genéticos de cacao como los de tipo Forastero. Este contenido mantiene relación con el origen y es significativamente diferente ($p < 0,05$) entre provincias.

Existe un efecto significativo del origen del cacao sobre el contenido de purinas, con un alto coeficiente de variabilidad 29,38 % para la cafeína.

La relación teobromina/cafeína permitió ubicar al cacao Nacional dentro de la clasificación de los cacaos Trinitarios con un rango que varía entre 5,56 y 7,86 en muestras fermentadas y secas.

REFERENCIAS

Álvarez F. (2008). Caracterización y tipificación de los parámetros físicos, químicos, fisico-químicos y componentes del sabor y aroma de una población de cacao criollo híbrido (*Theobroma cacao L.*) de Venezuela. Universidad Central de Venezuela, Caracas (Venezuela).

ANECACAO. (2011). Estadísticas históricas. from <http://www.anecacao.com/es/estadisticas-historicas/>

AOAC. (2005a). AOAC Official Method 963.15. Fat in Cacao Products. Soxhlet Extraction Method. : AOAC INTERNATIONAL.

AOAC. (2005b). AOAC Official Method 980.14. Theobromine and Caffeine in Cacao Products. Liquid Chromatographic Method. : AOAC INTERNATIONAL

Calderón L. (2002). Evaluación de los compuestos fenólicos del cacao (*Theobroma cacao L.*) de tipo fino y ordinario de producción nacional durante la fermentación en relación con la calidad., Pontificia Universidad Católica, Quito (Ecuador).

Cross E., Villeneuve F., y Vincent J. C. (1982). Recherche d'un indice de fermentation du cacao. I. Evolution des tanins et des phénols totaux de la fève. *Café, Cacao, Thé*, 26(2), 109-114.

Chevalley J. (1991). Theobromine and caffeine content of cocoa beans from different botanical and geographical origins. Paper presented at the Second International Congress on cocoa and chocolate, Munich (Alemania).

Efraim P., Pezoa-García N. H., Jardim D. C. P., Nishikawa A., Haddad R., y Eberlin M. N. (2010). Influência da fermentação e secagem de amêndoas de cacau no teor de compostos fenólicos e na aceitação sensorial. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(Supl. 1), 142-150.

Espín S. (2006). Evaluación de parámetros químicos volátiles y no volátiles asociados a la calidad del cacao: Informe final Ecuador, Componente II Proyecto CFC/ICCO/INIAP "To establish the physical, chemical and organoleptic parameters to differentiate between fine and bulk cocoa". Quito (Ecuador): CFC-Trinidad y Tobago, INIAP-Ecuador, INIA-Venezuela, QDPI-Australia, CCI-Papua New Guinea,

Espín S., Samaniego I., Wakao H., y Jiménez J. C. (2007). La relación teobromina/ cafeína asociada a la calidad del cacao ecuatoriano. *Alimentos Ciencia e Ingeniería*, 16(2), 107-109.

Hii C. L., Law C. L., y Suzannah S. (2012). Drying kinetics of the individual layer of cocoa beans during heat pump drying. *Journal of Food Engineering*, 108(2), 276-282.

Jinap S., Thien J., y Yap T. N. (1994). Effect of drying on acidity and volatile fatty acids content of cocoa beans. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 65(1), 67-75.

Oracz J., Zyzelewicz D., y Nebesny E. (2013). The content of polyphenolic compounds in cocoa beans (*Theobroma cacao* L.), depending on variety, growing region and processing operations: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2012.686934>

Ramírez T., y Paredes N. (2010). Análisis de la cadena de cacao y perspectivas de los mercados para la Amazonía Norte (Vol. 153). Quito (Ecuador): Instituto Nacional Autónomo de Investigación Agropecuaria (INIAP).

Rodríguez M., Motato N., Zambrano O., y Tarquino C. (2010). Manejo técnico del cultivo de cacao en Manabí. Portoviejo (Ecuador): Instituto Nacional Autónomo de Investigación Agropecuaria (INIAP) - Estación Experimental Portoviejo.

Samaniego I. (2012). Caracterización de la evolución de los polifenoles durante la fermentación del cacao: Un estudio de Espectroscopía de Infrarrojo Cercano NIRS y HPLC. Universidad de Montpellier, Montpellier (Francia).

Sukha D. A., Butler D. R., Amores F., Jiménez J. C., Ramos G., Gómez A., et al. (2007). Some highlights from the organoleptic component. Proyecto CFC/ICCO/INIAP "To establish the physical, chemical and organoleptic parameters to differentiate between fine and bulk cocoa" (pp. 10): CFC-Trinidad y Tobago, INIAP-Ecuador, INIA-Venezuela, QDPI-Australia, CCI-Papua New Guinea,.

Wollgast J., y Anklam E. (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 33(6), 423-447.

DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS CIANOGENICOS EN HOJAS Y CAPUCHONES DE UVILLA (*Physalis peruviana* L.), PERTENECIENTE AL ECOTIPO COLOMBIANO Y SUS IMPLICACIONES EN LA ELABORACIÓN DE TÉ

DETERMINATION OF CYANOGENIC COMPOUNDS IN CAPE GOOSEBERRY (*Physalis peruviana* L.) LEAVES AND CALYXES BELONGING TO COLOMBIAN ECOTYPE AND ITS IMPLICATIONS FOR THE DEVELOPMENT OF AN HERBAL TEA

I. Molina, C. Carpio*

Universidad Técnica de Ambato (UTA), Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos,
Av. Los Chasquis y Río Payamino, Ambato, Ecuador.

Artículo recibido: 15/05/14

Artículo aceptado: 14/11/14

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar la cantidad de compuestos cianogénicos (como HCN liberado) presentes tanto en hojas como en capuchones de uvilla y verificar si es posible elaborar con estos residuos un nuevo producto para consumo humano, un té. Para la determinación de HCN se emplearon dos métodos: uno de carácter cuantitativo (método oficial AOAC 915.03, ácido cianhídrico en granos: titulación alcalina) y otro de carácter cualitativo (ensayo de Magnin). Las muestras fueron sometidas a dos diferentes procesos: escaldado con vapor por 5 minutos y secado a 40, 50 y 60 °C hasta alcanzar la humedad de equilibrio. Con la temperatura de secado de 60 °C se logró reducir significativamente la cantidad de HCN (1730,79 mg HCN/kg hojas secas y 1805, 33 mg HCN/kg capuchones secos -valores iniciales antes de la aplicación de los dos procesos térmicos-) hasta llegar a límites permisibles (11,49 mg HCN/kg hojas secas y 23,03 mg HCN/kg).

Palabras clave: capuchones, hojas, compuestos cianogénicos, té, escaldado, secado.

ABSTRACT

The main objective of this study was to determine the amount of cyanogenic compounds (as HCN release) present in cape gooseberry leaves and calyxes and check if it is possible to develop a new product for human consumption, a tea with these residues. For the determination of HCN two methods were used: a quantitative test (AOAC official method 915.03, hydrocyanic acid in beans: alkaline titration method) and a qualitative one (Magnin test). The samples were subjected to two different processes: steam blanching for 5 minutes and drying at 40, 50 and 60 °C until equilibrium moisture was reached, being the temperature of 60 °C which was able to significantly reduce the amount of HCN (1730,79 mg HCN/kg dry leaves and 1805, 33 mg HCN/kg dry calyxes -initial values before application of the two thermal processes-) up to allowable limits (11,49 mg HCN / kg dry leaves and 23,03 mg HCN/kg dry caps) harmless to health. In addition, diffusion coefficients were determined for both raw materials at the assayed temperatures.

Keywords: Cape gooseberry, leaves, calyxes, cyanogenic compounds, tea, blanching, drying.

1. INTRODUCCIÓN

La uvilla o uchuva (*Physalis peruviana* L.), es una planta que crece en algunos países de América Latina, incluido el nuestro. En Ecuador, el fruto del vegetal categorizado como exótico en el mercado internacional, en su mayoría se consume de manera natural. Además, tiene aplicaciones culinarias (ensaladas, postres, salsas) y, eventualmente, se elaboran dulces, mermeladas y helados.

Según Franco et al. (2013) y Wu et al. (2005), estudios científicos realizados a la fecha demuestran que, a las bondades nutricionales que se atribuyen a la uvilla (frutas, hojas y capuchones), se suman muchas propiedades medicinales.

Corroborando lo expuesto, los compuestos contenidos en los capuchones, están siendo utilizados con resultados exitosos en la medicina natural, dadas sus propiedades anticancerígenas, antimicrobianas, antipiréticas, diuréticas, antiinflamatorias e inmunomoduladoras. Adicionalmente, los extractos de las hojas y capuchones de la planta de uvilla contienen importantes actividades antibióticas y antioxidantes (Franco Ospina L. A., et al., 2013). No obstante lo señalado, hojas y capuchones de uvilla, pueden contener glucósidos cianogénicos dado que más de 2500 especies de plantas sintetizan estos compuestos como parte del mecanismo de defensa vegetal frente al ataque de predadores (Cardoso A. P. et al., 2005); cuando se lastima o se corta al vegetal se libera ácido cianhídrico (HCN), que en dosis altas puede causar no sólo daño a la salud, sino inclusive la muerte.

Tungurahua es una provincia del Ecuador que tiene condiciones favorables para el cultivo tecnificado de la uvilla, y en el cantón Quero, de hecho, se ha incursionado en este cultivo. Como muestra de lo afirmado, la "Asociación Artesanal Tierra Productiva" con la ayuda de la Universidad Técnica de Ambato, se propuso aprovechar de mejor manera el cultivo de esta planta, por esto el objetivo del presente trabajo fue elaborar a partir de sus hojas un nuevo producto alimenticio, el té de uvilla, para aprovechar los posibles beneficios para la salud.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Para la elaboración del té se utilizaron hojas y capuchones de uvilla del ecotipo colombiano. Los productos químicos empleados para la determinación de HCN fueron: hidróxido de sodio, sulfato ferroso, ácido clorhídrico concentrado, hidróxido de amonio, yoduro de potasio y nitrato de plata, todos de grado analítico.

2.1 Elaboración del té.

Los capuchones se obtuvieron al separarlos de la fruta cosechada y las hojas al desprenderlas del tallo.

Se apartaron porciones de estos residuos, las cuales fueron utilizadas como control. Todo el material incluyendo el control fue lavado. Los capuchones y hojas (sin el control) fueron sometidos a un escaldado con vapor por 5 minutos y secados en un secador de túnel a 40, 50 y 60 °C luego de cortarlos en trozos de aproximadamente 1cm en un procesador. Se elaboraron las curvas de secado correspondientes y se determinaron los coeficientes de difusividad. El producto seco proveniente del mejor tratamiento fue molido en un molino de mano para envasarlo en su presentación final, funditas de 1 g (Figura 1).



Figura 1. Funditas de té.

2.2 Diseño experimental

Se empleó un diseño completamente aleatorio en arreglo factorial AxB con dos réplicas (Tabla 1). Las variables de estudio fueron la temperatura de secado (40, 50 y 60 °C) y la materia prima (hojas y capuchón); en tanto que la respuesta experimental fue la cantidad de compuestos cianogénicos (mg HCN/kg de producto seco).

Tabla 1. Descripción de los tratamientos establecidos en el diseño experimental

N°	Tratamiento	Descripción	Respuesta experimental
1	a0b0	40 °C - Hojas	Cantidad de ácido cianhídrico (mg HCN/kg producto seco)
2	a0b1	40 °C - Capuchones	
3	a1b0	50 °C - Hojas	
4	a1b1	50 °C - Capuchones	
5	a2b0	60 °C - Hojas	
6	a2b1	60 °C - Capuchones	

2.3 Determinación del contenido de glucósidos cianogénicos.

La cuantificación de glucósidos cianogénicos en el control y en hojas y capuchones al final del secado a 40, 50 y 60 °C se realizó por duplicado mediante el método descrito en la AOAC 915.03, parte B (AOAC, 2005). Dicho método fue el ensayo cuantitativo utilizado para determinar el contenido de HCN tanto en las muestras de hojas y capuchones sin tratamiento (control), así como en hojas y capuchones secados a 40, 50 y 60 °C, mediante el empleo de la siguiente igualdad:

$$1 \text{ mL } 0,02 \text{ M AgNO}_3 = 1,08 \text{ mg HCN}$$

Se confirmó la presencia de glucósidos cianogénicos mediante la técnica cualitativa de Magnin (González M., 2014)

Los resultados se analizaron con los paquetes estadísticos Statgraphics Centurion XVI e Infostat.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Contenido de ácido cianhídrico del producto

El contenido promedio de HCN en el control fue de 1730,79 mg HCN/kg hojas secas y 1805,33 mg HCN/kg capuchones secos. Estos valores decrecieron a medida que la temperatura de secado aumentó, hasta llegar a 11,49 y 23,03 mg HCN/kg de hojas y capuchones, respectivamente (Figura 2), cuando las muestras se secaron a 60 °C luego de recibir un tratamiento con vapor por un lapso de 5 minutos, comprobándose que el HCN es un compuesto volátil y soluble en agua cuyo contenido se puede reducir significativamente por tratamientos similares a los empleados para detoxificar yuca (Oke O. L., 1994).

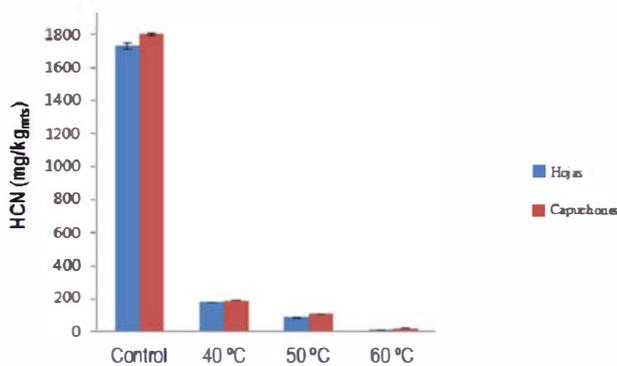


Figura 2. Ácido cianhídrico (HCN) promedio presente en hojas y capuchones de uvilla sin tratamiento (control) y tratados con vapor por 5 minutos y secados a diferentes temperaturas.

3.2 Determinación del coeficiente de difusión en el proceso de secado.

El proceso de deshidratación constituye una etapa clave en la elaboración de té de hojas y capuchones. El comportamiento durante el secado de estas dos materias primas fue investigado a las tres temperaturas de proceso 40, 50 y 60 °C. Los valores de humedad inicial de las dos materias primas tratadas con vapor variaron entre 81,4 y 84,3 % para hojas y de 80,5 a 82,4% para capuchones y, luego de 4 horas de secado a 40 °C: descendieron a 16,02 y 17,14 g; a 50 °C la humedad de los productos fue de 6,14 y 5,68 g y a 60 °C se redujeron a 4,46 y 4,33 g, para hojas (Figura 3) y capuchones (Figura 4) respectivamente, deduciéndose que, mientras más alta es la temperatura con la que se secan los residuos vegetales experimentales, éstos perderán mayor cantidad de peso en menor tiempo, lo cual significa que temperatura y pérdida de peso son parámetros directamente proporcionales.

Resulta importante resaltar que, con las tres temperaturas de secado (40, 50 y 60 °C) se llegó a eliminar un porcentaje similar de agua en las muestras, hasta alcanzar un valor algo superior al 4 % de humedad, pero empleando diferentes tiempos de secado (Figuras 3 y 4). Se establece que una muestra secada a una temperatura baja, alcanzará un determinado contenido de humedad (hasta llegar a la humedad de equilibrio) en mayor tiempo que si fuera secada a una temperatura mayor (la temperatura influye de manera inversa en la humedad). Según Sánchez (2007), las disminuciones de humedad se deben al incremento de la presión de vapor del agua a medida que aumenta la temperatura y a los coeficientes de transferencia de materia.

La ecuación de Fick se utiliza en múltiples casos para explicar el proceso de secado de materiales alimenticios sólidos que involucran difusión de agua (Akanbi C. T. et al., 2006).

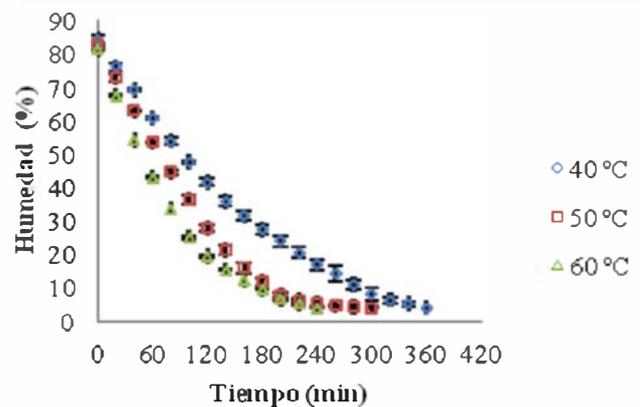


Figura 3. Evolución del contenido de humedad promedio en hojas de uvilla tratadas con vapor por 5 minutos, durante el secado a 40, 50 y 60 °C.

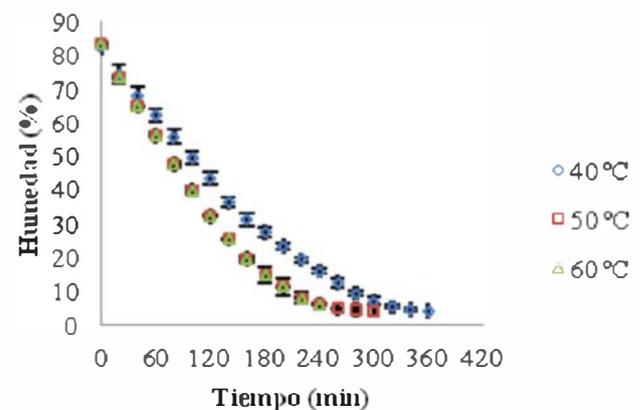


Figura 4. Evolución del contenido de humedad promedio en capuchones de uvilla tratados con vapor por 5 minutos, durante el secado a 40, 50 y 60 °C.

La solución de la segunda Ley de Fick para transporte unidireccional, cuando se considera una distribución de humedad uniforme al inicio y que la resistencia externa a la transferencia de masa es omisible, permitió utilizar la Ecuación 1, descrita por García Gómez (2012):

$$X^* = (8/\pi^2) \cdot e^{-(\pi^2 D \cdot t)/d^2}$$

Ecuación 1

Donde,

X^* : relación entre la humedad extraída de la muestra en el tiempo t y la masa de agua extraída de la muestra al alcanzar el régimen permanente ($t \rightarrow \infty$) (adimensional)
 D : difusividad ($10^{-9} \text{ cm}^2/\text{s}$)
 T : tiempo de secado (h)
 d : espesor de la materia prima (cm)

Mediante la linealización de dicha ecuación y la utilización de la pendiente de la gráfica logaritmo natural de la razón de contenidos de humedad (ordenadas) contra el tiempo (Figuras 5 y 6), fue posible calcular los valores de los coeficientes de difusividad (D) para hojas y capuchones de uvilla secados a las tres temperaturas (Tabla 2).

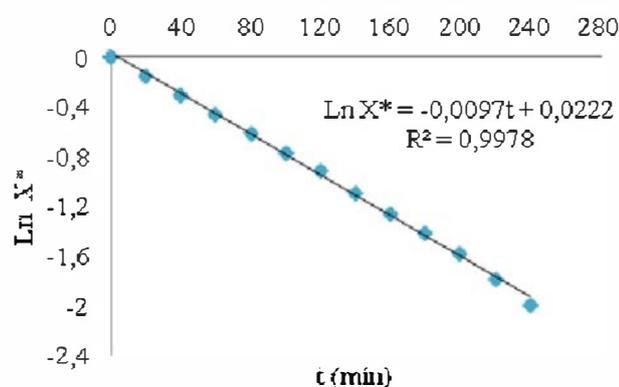


Figura 5. Ln de la razón de contenidos de humedad (X^*) para hojas de uvilla tratadas con vapor por 5 minutos y secadas a 60°C durante 240 minutos.

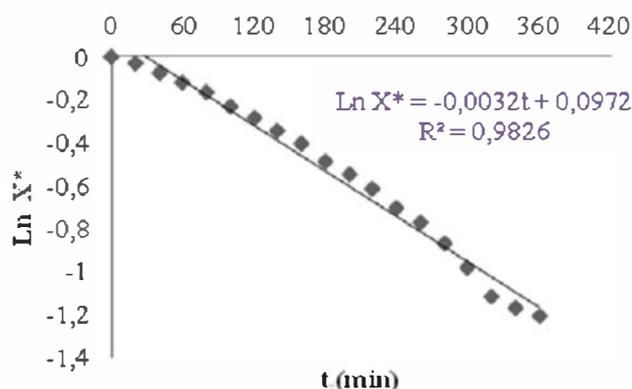


Figura 6. Ln de la razón de contenidos de humedad (X^*) para capuchones de uvilla tratados con vapor por 5 minutos y secados a 60°C durante 240 minutos.

Tabla 2. Coeficiente de difusión para hojas y capuchones de uvilla

Muestra	Temperatura ($^\circ\text{C}$)	Coefficiente difusión (D) ($10^{-9} \text{ cm}^2/\text{s}$)
Hojas	4	3,62
	50	4,19
	60	5,02
Capuchones	40	1,66
	50	1,76
	60	1,81

El valor de D más alto ($5,016 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^2/\text{s}$) fue el obtenido para el tratamiento a2b0 (60°C -hojas) y el valor de D más bajo ($1,655 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^2/\text{s}$) el calculado para el tratamiento a0b1 (40°C -capuchones).

Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado por Esturau (2011), quien menciona que un aumento en la temperatura, incrementa la difusión y que los coeficientes de difusión para sólidos son del orden de $10^{-9} \text{ cm}^2/\text{s}$. Estos resultados demuestran que el efecto de la temperatura sobre este parámetro guarda una relación directa. Además, el coeficiente de difusión es función directa de los valores de la pendiente y de espesor o grosor de la muestra con la que se trabaja.

4. CONCLUSIONES

Se determinó que existen compuestos cianogénicos en hojas y capuchones de uvilla (*Physalis peruviana* L. perteneciente al ecotipo colombiano mediante dos tipos de ensayo, el primero cualitativo, denominado ensayo de Magnin y el segundo de carácter cuantitativo, el método de titulación alcalina (parte B) descrito en el método oficial 915.03 de la AOAC, El contenido promedio de HCN en ambos tipos de materia prima (control: residuos de uvilla sin tratamiento) es de $1730,79 \text{ mg HCN/kg}$ de hojas y $1805,33 \text{ mg HCN/kg}$ de capuchones.

Se evaluó el efecto del escaldado por 5 minutos y de la temperatura de secado sobre el contenido de compuestos cianogénicos y sobre el peso y contenido de humedad de los residuos de uvilla (hojas y capuchones).

Se identificó que mediante un escaldado de 5 minutos a 60°C se elimina la mayor cantidad de ácido cianhídrico presente en las muestras de uvilla, el contenido de HCN disminuye hasta en un 99,34 % en hojas y en 98,72 % en capuchones. Se comprobó que la humedad se ve influenciada por la temperatura, reduciéndose en mayor porcentaje cuando se emplea una temperatura de secado mayor.

Todos los valores del coeficiente de difusión (D) para hojas resultaron ser mayores a los valores de D para capuchones. El tratamiento a2b0 (60°C -hojas) presentó el valor más alto ($5,016 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^2/\text{s}$), mientras que el menor D ($1,655 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^2/\text{s}$) provino del tratamiento a0b1 (40°C -capuchones).

REFERENCIAS

Akanbi C. T., Adeyemi R. S., y Ojo A. (2006). Drying characteristics and sorption isotherm of tomato slices. *Journal of Food Engineering*, 73, 157-163. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2005.01.015

AOAC. (2005). AOAC Official Method 915.03. Hydrocyanic Acid in Beans. Titrimetric Methods (pp. 1). : AOAC INTERNATIONAL.

Cardoso A. P., Mirione E., Ernesto M., Massaza F., Cliff J., Haque M. R., et al. (2005). Processing of cassava roots to remove cyanogens. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18, 451-460. doi: doi:10.1016/j.jfca.2004.04.002

Esturau N. (2011). Medidas de coeficiente de difusión por RMN. Metodología, aspectos experimentales y fundamentos. PhD Thesis, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona (España). Disponible en <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/79094/nee1de1.pdf?sequence=1>

Franco Ospina L. A., Matiz Melo G. E., Pájaro Bolívar I., y Gómez Estrada H. A. (2013). Actividad antibacteriana in vitro de extractos y fracciones de *Physalis peruviana* L. y *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Swartz. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 12(3), 230-237.

García Gómez D. F. (2012). Determinación de coeficientes de difusión de humedad en papeles aislantes de transformador. Universidad Carlos III de Madrid, Madrid (España).

González M. (2014). Determinación de ácido cianhídrico en vísceras. *Ciencia Forense*, from <http://cienciaforense.com/pages/toxicologia/hcn.htm>

Oke O. L. (1994). Eliminating cyanogens from cassava through processing: technology and tradition. *Acta Horticulturae*, 375, 163-174.

Sánchez R. (2007). Determinación coeficiente convectivo de materia en el secado de sólidos. *Maderas. Ciencia y tecnología.*, 9(3), 245-258.

Wu S. J., Ng L. T., Huang Y. M., Lin D. L., Wang S. S., Huang S. N., et al. (2005). Antioxidant Activities of *Physalis peruviana*. *Biological and Farmaceutical Bulletin*, 28(6), 963-966.

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA BORRAJA (*Borago officinalis* L.) Y LA ORTIGA (*Urtica dioica* L.), COMO ACELERANTES Y ENRIQUECEDORES NUTRITIVOS EN EL PROCESO DE COMPOSTAJE

EVALUATION OF THE EFFECT OF BORAGE (*Borago officinalis* L.) AND NETTLE (*Urtica dioica* L.) AS ACCELERATORS AND NUTRITIONAL ENHANCERS IN THE COMPOSTING PROCESS

G. Paredes* , L. Pérez

Universidad Técnica de Ambato (UTA), Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos,
Av. Los Chasquis y Río Payamino, Ambato, Ecuador.

Artículo recibido: 10/06/14

Artículo aceptado: 16/11/14

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue acelerar el proceso de compostaje de residuos sólidos urbanos, para lo cual se utilizaron dos especies vegetales borraja (*Borago officinalis* L.) y ortiga (*Urtica dioica* L.), realizando un diseño de bloques con arreglo factorial AxBxC y un ANOVA al 95 % de confianza, teniendo en cuenta que los factores involucrados en esta investigación fueron; tipo de acelerante (borraja, ortiga), parte de la planta (hoja, tallos) y dosificación (5%, 10 %). Se pudo determinar que los tres factores anteriormente descritos influyen significativamente en el tiempo de compostaje, y la cantidad de nutrientes presentes el abono orgánico.

Para evidenciar la asimilación de los nutrientes presentes en el abono orgánico, éste se sometió a un cultivo de rápido crecimiento (rábanos), teniendo en cuenta parámetros como peso del cultivo y cantidad de clorofila en las hojas de los rábanos.

Al realizar el análisis estadístico se determinó que el mejor tratamiento fue el a0b1c1 que consistía en la aplicación de las hojas de la borraja en una dosificación del 10 %, teniendo menor tiempo de compostaje (49 días), mayor peso de rábanos (36,89 g) y mayor cantidad de clorofila en las hojas de los rábanos (6,39 µg/ml).

Palabras clave: Proceso de compostaje, tiempo de compostaje, borraja, ortiga

ABSTRACT

The aim of this study was to accelerate the composting process of solid urban remainders, to do that it's appropriate to use to vegetables species borage (*Borago officinalis* L.) and nettle (*Urtica dioica* L.), making a block design with factorial arrangement AxBxC and a ANOVA with 95% of confidence, realizing that factors involve in this research were; kind of accelerator (borage, nettle), part of the plants (leaves, stalks) and dosage (5%, 10%). The three factors previously described significantly influence in the composting time and the amount of nutrients in organic fertilizer was determined.

To demonstrate the assimilation of nutrients presents in the organic fertilizer, this was subjected to a culture of rapid growth (radishes), taking into account parameters such as weight of the culture and the amount of chlorophyll in leaves of radish.

Through an statistical analysis was determined that the best treatment was a0b1c1 which consisted of the application of borage leaves in a dosage of 10%, having lower composting time (49 days), greater weight of radish (36,89 g) and increased amount of chlorophyll in the leaves of radish (6,39 µg/ml).

Keywords: composting process, composting time, borage, nettle.

1. INTRODUCCION

Según la asociación internacional de residuos sólidos (ISWA, 2014) este es un siglo en el que se ha evidenciado el hiperconsumismo, A modo de ejemplo, la ciudad de Bangkok ha incrementado su superficie habitada de 67 km² a 426 km² en tan solo 40 años. Todo hace pensar que la tasa de generación de residuos prevista a nivel mundial podrá, efectivamente, verse incrementada en un 44% durante el periodo 2005-2025.

Esta es la razón por lo cual países europeos han optado por realizar trabajos con los residuos orgánicos realizando procesos de compostaje, así encontrándose en un problema con el largo tiempo que lleva este proceso optaron por utilizar un nuevo ingrediente denominado *comfrey*, el cual ha dado muy buenos resultados, disminuyendo el tiempo de compostaje así como también aumentando la cantidad de N, P y K, aspecto muy beneficioso para los cultivos (Ebrahimi A., et al., 2010).

Fue en el año 1925 cuando en Europa comenzó a estudiarse la posibilidad de descomponer a gran escala las basuras de las ciudades con la puesta en marcha del método indú Indore.

En la ciudad holandesa de Hanmer se instaló en 1932 la primera planta de compost hecho con las basuras urbanas, A principios de la década de los 60, había en Europa 37 plantas y a inicios de los 70 se llegó a 230 plantas (APROBORCA, 2011).

En diversos países para disminuir el tiempo de compostaje han optado por realizar investigaciones con harina de ortiga obteniendo resultados satisfactorios, tales como en la reducción de tiempo de compostaje hasta de un mes y el incremento de fósforo y potasio en el abono orgánico (Carpenter-Boggs L., et al., 2000; Turinek M., et al., 2009).

En la región latina se ha optado por la investigación con microorganismos, tal es el caso de Argentina que aceleró el proceso de compostaje de residuos sólidos urbanos con mezcla de microorganismos endógenos las cuales fueron identificadas como *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* y un hongo *Aspergillus fumigatus*. Los microorganismos antes mencionados lograron que la pila de abono orgánico alcance estabilidad y madurez cuatro semanas antes que la pila de control la cual estuvo sin inoculación de microorganismos (Carriello M., et al., 2007).

Para evidenciar un buen proceso de compostaje se debe tener en cuenta parámetros muy importantes que se debe controlar como la humedad, ya que según Wu, et al (2000) un compost con una humedad adecuada debe estar no por encima del 40 %.

Otro parámetro que es muy importante tomar en cuenta para la producción de compost es la temperatura ya que ésta ayuda a realizar cambios en la calidad y densidad de la población microbiana (Herrmann R. y Shann J., 1997). Es muy importante no observar picos de autocalentamiento ya que esto evidencia el periodo propio de estabilización (Boulter J. I., et al., 2002).

El pH es de vital importancia ya que evidencia la degradación de la materia orgánica: al inicio debe presentar un pH ligeramente ácido, lo que se atribuye a los ácidos orgánicos simples los cuales son productos iniciales de la descomposición (Boulter J. I., et al., 2002). El pH final de un compost bien elaborado debe ser neutro ya que esto demostrara una buena descomposición aerobia de los residuos orgánicos (Jimenez, Garcia; 1989).

2. MATERIALES Y METODOS

2.1 Material vegetal

Las muestras de borraja (*Borago officinalis* L.) y ortiga (*Urtica dioica* L.) que se ocuparon como acelerantes en investigación planteada se las obtuvo de los distintos mercados de la provincia de Tungurahua.

Para el estudio de las respuestas experimentales se aplicó un diseño de bloques con arreglo factorial AxBxC con 2 réplicas para cada tratamiento para obtener los días de compostaje, mientras que para peso de los rábanos y cuantificación de clorofila se aplicó con 3 réplicas cada tratamiento.

Los residuos orgánicos a ser sometidos al compostaje fueron desperdicios de podas de árboles de ciruela claudia (*Prunus domestica* subsp. italica) y de césped (gramíneas de la familia de las poáceas), también se utilizaron residuos domésticos (frutas, verduras) y suelo de páramo o suelo negro.

2.2 Diseño experimental

Para el estudio de las respuestas experimentales se aplicó un diseño de bloques con arreglo factorial AxBxC con 2 réplicas para cada tratamiento para obtener los días de compostaje, mientras que para peso de los rábanos y cuantificación de clorofila se aplicó con 3 réplicas cada tratamiento.

Los factores y niveles utilizados en la presente investigación se detallan a continuación:

- A: Tipo de acelerante
 - a0: Borraja
 - a1: ortiga
- B: Parte de la planta a ser utilizada como acelerante
 - b0: tallo
 - b1: hojas
- C: Dosificación del acelerante en las camas de compostaje
 - c0: 5%
 - c1: 10%

Tabla 1. Tratamientos aplicados en el diseño experimental

Tratamientos	Mezcla	Combinación de bs tratamientos
T1	a ₀ b ₀ c ₀	Cama de compostaje con acelerante tallos de borraja con dosificación del 5%
T2	a ₀ b ₀ c ₁	Cama de compostaje con acelerante tallos de borraja con dosificación del 10%
T3	a ₀ b ₁ c ₀	Cama de compostaje con acelerante hojas de borraja con dosificación del 5%
T4	a ₀ b ₁ c ₁	Cama de compostaje con acelerante hojas de borraja con dosificación del 10%
T5	a ₁ b ₀ c ₀	Cama de compostaje con acelerante tallos de ortiga con dosificación del 5%
T6	a ₁ b ₀ c ₁	Cama de compostaje con acelerante tallos de ortiga con dosificación del 10%
T7	a ₁ b ₁ c ₀	Cama de compostaje con acelerante hojas de ortiga con dosificación del 5%
T8	a ₁ b ₁ c ₁	Cama de compostaje con acelerante hojas de ortiga con dosificación del 10%

Los porcentajes de dosificación de los acelerantes fueron calculados en base al peso de la materia orgánica de cada cama de compostaje. De esta manera se contó con 8 tratamientos que con su réplica dieron un total de 16 tratamientos, además fue incluido un tratamiento testigo el cual no se lo incluyó en el diseño experimental (ver Tabla 1).

2.3 Control de temperatura

La temperatura se tomó cada semana antes de airear cada cama de compostaje, para reducir errores experimentales se tomó tres lecturas, la primera entre los primeros 10 cm de la cama de compostaje, la segunda entre los segundos 10 cm de la cama de compostaje y la tercera de los últimos 10 cm de la cama de compostaje.

2.4 Control de humedad

El método aplicado para los ensayos de humedades fue el método APHA (Clesceri L. S., et al., 1998). Las muestras para la medición de humedad se las tomó después de airear las camas de compostaje, ya que esto permitía muestrear homogéneamente.

Con los datos obtenidos se aplicó la Ecuación 1 que dió el porcentaje de humedad de la muestra:

$$\%H = \frac{M3 - M1}{M2 - M1} \times 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

M1: peso de la cápsula vacía (g),

M2: peso de la cápsula + muestra húmeda (g),

M3: peso de la cápsula + muestra seca (g)

2.5 Control de potencial hidrógeno (pH)

El método aplicado para los ensayos de pH fue el método APHA (Clesceri L. S., et al., 1998). Las muestras para la medición de pH se las tomó por triplicado, mediante un pH-metro Crison Basic 20, tras airear las camas de compostaje, ya que esto permitía muestrear homogéneamente.

2.6 Empleo del abono orgánico en plantas de rábano

Una vez terminado el proceso de compostaje, el abono resultante de los diferentes tratamientos se lo aplicó en cultivos de rábano (*Raphanus sativus* L.) para observar el aporte nutritivo y la asimilación de los nutrientes por la planta. El abono resultante se mezcló con tierra cultivada en una relación de 1 kg de tierra y 50 g de compost, colocando en cada recipiente 4 semillas de rábano y realizando tres réplicas por cada tratamiento. Se colocaron dos tarrinas adicionales una de ellas con el compost testigo y la otra tarrina solamente con tierra cultivada. Los rábanos se cultivaron a los 25 días de ser sembrados.

2.7 Cuantificación de clorofila total

Para la cuantificación de clorofila se utilizaron muestras de 0,358 cm² de hojas de la planta, a las cuales se añadieron 5 ml de acetona y que se trituraron en un mortero con un pistilo. Posteriormente se procedió a filtrar lo triturado. El filtrado se colocó en cubetas de espectrofotómetro y se procedió a medir las absorbancias a 662 y 645 nm. Para obtener la cantidad de clorofila total en µg/ml se utilizó la Ecuación 2 (Val J., et al., 1985):

$$Cl_t = (6,83 \times Abs_{662}) + (18,27 \times Abs_{645})$$

Ecuación 2

Donde:

Cl_t : contenido total de clorofila ($\mu\text{g/ml}$),

Abs_{662} : absorbancia medida a 662 nm,

Abs_{645} : absorbancia medida a 645 nm.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos obtenidos de los parámetros de control sirvieron de lineamiento para determinar la finalización del proceso de compostaje.

En el caso de la temperatura se puede evidenciar en la Figura 1. Al iniciar el proceso de compostaje se puede apreciar que en el mejor tratamiento (a0b0c0), la temperatura es moderada durante las dos primeras semanas así evidenciándose la fase mesófila, en la cual se encuentran presentes microorganismos mesófilos los cuales actúan sobre los compuestos solubles y fácilmente degradables, la mayoría de estos microorganismos que se encuentran en la fase mesófila son correspondientes a las especies que se encuentran en la superficie del suelo tales como: Pseudomonas, Bacillus y bacterias celulolíticas como Celulomonas, también se encuentran gran variedad de hongos filamentosos y levaduras en su mayoría saprofitos, estos últimos se encuentran en su mayoría en la fase mesófila y termófila, ayudando a la descomposición de polímeros complejos (celulosa, hemicelulosa, pectina, lignina).

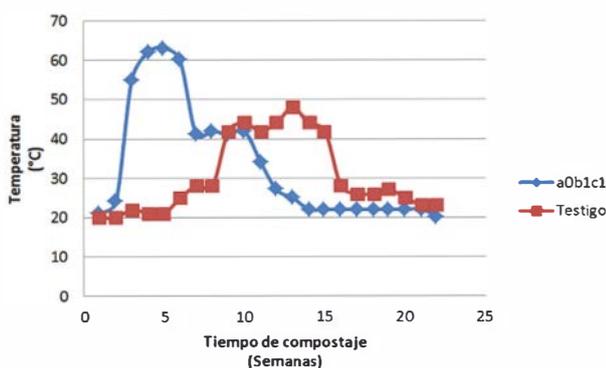


Figura 1. Comparación de la evolución de la temperatura en el proceso de compostaje del mejor tratamiento con el testigo

Los hongos son primordiales en el proceso de compostaje ya que éstos rompen restos vegetales y animales, permitiendo que las bacterias continúen el proceso de descomposición una vez que la celulosa se ha agotado.

Estos pueden atacar a material demasiado seco, ácido o con bajo contenido de nitrógeno ya que la acción de las bacterias es limitado en este tipo de materiales. A partir de la tercera semana se alcanzó una temperatura máxima de 63 °C, lo cual evidenció el inicio de la fase termófila, la cual se mantuvo por tres semanas, de ahí descendió a 40 °C manteniéndose por cuatro semanas, en esta etapa los géneros de microorganismos predominantes son los actinomicetes ya que éstos son los encargados de descomponer compuestos orgánicos complejos como celulosa, hemicelulosa, quitina y lignina. Los actinomicetes poseen enzimas capaces de degradar materiales resistentes como cortezas de árbol, trozos de madera y papel; éstos son los responsables del olor a tierra en la fase final del proceso de compostaje.

La temperatura empezó a descender a partir de la décima semana llegando a una temperatura final de 22 °C y a estabilizarse desde la semana 14, evidenciando ya el proceso de maduración de este tratamiento. En esta etapa los microorganismos mesófilos se vuelven a activar ya que éstos al aumentar la temperatura sobreviven formando endosporas y vuelven a activarse cuando las condiciones son favorables.

La evolución de la temperatura de la prueba testigo no alcanzó una temperatura mayor a 48 °C, tras lo que descendió a los 23 °C, estabilizándose hasta la semana 21, mostrando una degradación de la materia orgánica no tan eficiente y a su vez lenta.

Al hablar de temperatura hay que tener en cuenta que este parámetro evidencia un cambio en la calidad y densidad de la población microbiana. Al constatar elevadas temperaturas en el proceso de compostaje es beneficioso ya que éstas indican una mayor actividad metabólica, lo cual es de suma importancia para la eliminación de microorganismos patógenos.

Se puede observar en el Figura 1 que el tratamiento a0b1c1 no presenta picos de autocalentamiento a partir de la semana 8 que es propia de la etapa de estabilización, mientras que el testigo apenas la etapa de estabilización inicia en la semana 14.

Otro parámetro muy importante que se controló fue la humedad (Figura 2) ya que, como diversos autores afirman, la humedad óptima de un compost no debe estar por encima del 40 % (Komilis D. P., 2006; Richard T. L., et al., 2002; WSU, 2014).

En la Figura 3 se observa que el mejor tratamiento alcanza una humedad menor al 40 % en la semana 16 mientras que la cama de compostaje que no contenía ningún tipo de acelerante alcanza la humedad del 40,97 % apenas en la semana 22.

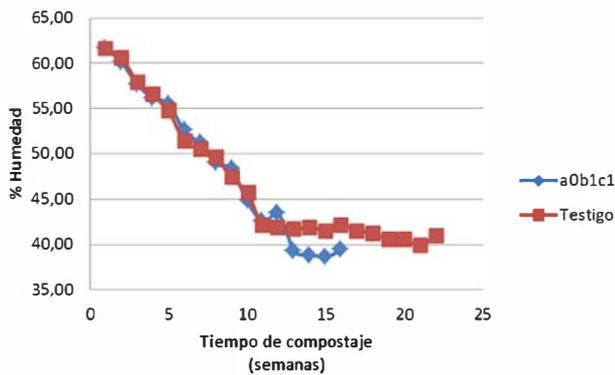


Figura 2. Evolución del % de humedad del mejor tratamiento comparado con el testigo

La descomposición microbiana ocurre con mayor rapidez en la película delgada de agua que rodea las partículas orgánicas, mientras que la deficiencia de humedad (<30%) inhibe la actividad microbiana, contenidos muy altos (>65%) genera condiciones anaerobias y consecuentemente la ralentización de la degradación y la producción de olores desagradables, evidenciándose ya un proceso de putrefacción de la materia orgánica.

Al iniciar el proceso de compostaje el pH fue ácido, esto se debe a que las bacterias y hongos al digerir la materia orgánica liberan ácidos orgánicos simples, los cuales serán consumidos posteriormente. El descenso inicial del pH ayuda al crecimiento de los hongos (acidófilos), y la ruptura de celulosa y lignina.

Al obtener un pH neutro o ligeramente básico los actinomicetes juegan un papel importante, ya que estos ayudan a la formación de ácidos húmicos y son frecuentemente productores de antibióticos que inhiben el crecimiento de patógenos.

La diferencia entre las camas con acelerante y la testigo fue que la testigo a partir de la semana 3 tuvo un pH cercano al neutro y obteniendo posteriormente valores ligeramente alcalinos, mientras que la cama de compostaje aOb1c1 evolucionó de forma lenta y gradual.

Como se puede observar en la Figura 3, el pH de la cama con acelerante se mantiene por debajo del pH de la cama testigo, esto indica una correcta descomposición aerobia de la materia orgánica. El pH final de la cama de compostaje con acelerante fue neutro, mientras que la testigo fue ligeramente alcalina.

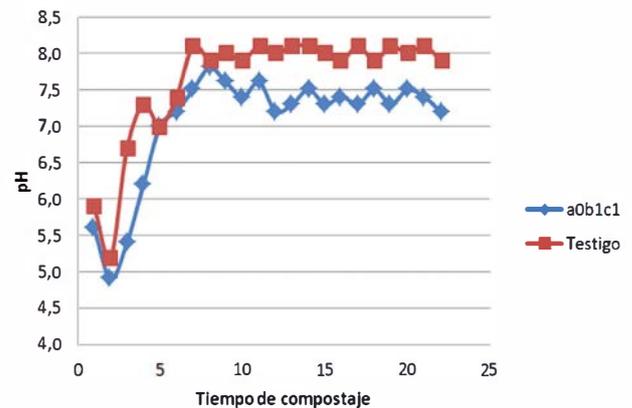


Figura 3. Comparación de la evolución del pH en el proceso de compostaje del mejor tratamiento con el testigo.

3.1 Días de compostaje

Al momento de realizar el análisis de la evolución de la temperatura, se evidenció que el tratamiento que estabilizó primero la temperatura fue el que contenía como acelerante las hojas de borraja con una dosificación del 10 %, es decir, el tratamiento aOb1c1 para evaluar esto se tomó en cuenta que las diferentes camas de compostaje tuviesen dos semanas seguidas la misma temperatura es decir que dos semanas se encuentren estabilizadas (Figura 4).

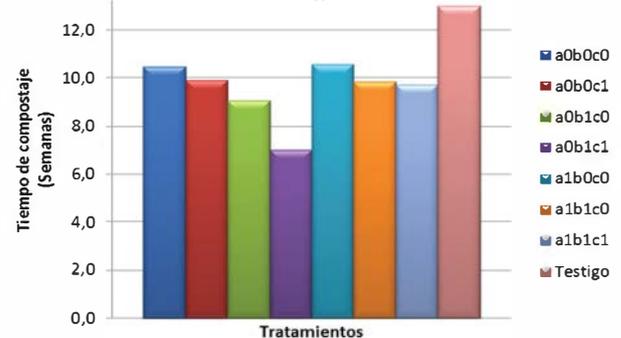


Figura 4 se puede apreciar los diferentes tratamientos y sus respectivos tiempos de compostaje comparados con el testigo.

3.2 Empleo del abono orgánico en cultivos de rábano

Al momento de cultivar los rábanos después de 25 días de ser sembrados se los pesó, y se observó la variación de los pesos.

Tal como puede verse en la Figura 5, todos los tratamientos estudiados permitieron incrementar el tamaño del fruto por encima de lo que el tratamiento testigo lo hizo. Entre los tratamientos estudiados, fue la administración al suelo de hojas de borraja al 10 % lo que incrementó al máximo el tamaño del fruto de rábano, ofreciendo el resto de los tratamientos rendimientos inferiores y similares entre sí.

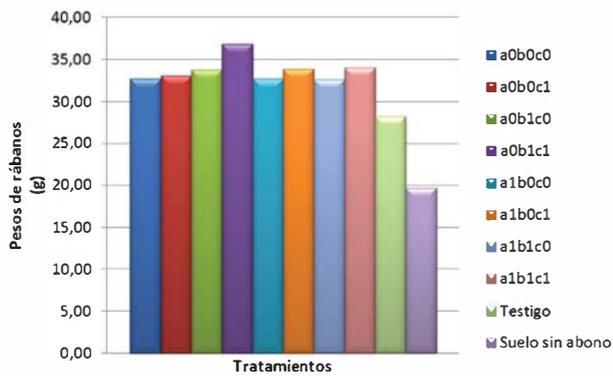


Figura 5. Peso de los rábanos en función de los tratamientos de compostaje estudiados

3.3 Cuantificación de clorofila total

Al realizar la cuantificación de clorofila total contenida en las hojas de los rábanos cultivados con el abono orgánico resultante de los diferentes tratamientos se pudo observar una gran diferencia de resultados, en la Figura 6 se observa la variación de cantidad de clorofila total. De nuevo, puede apreciarse que el suelo abonado con hojas de borraja al 10 % presentó los mayores contenidos de clorofila total, lo que podría parecer estar de acuerdo con una mayor ganancia de peso en los frutos observada anteriormente. Sin embargo, no se aprecia una correlación entre ambos parámetros, a la vista de las diferencias observadas entre los tratamientos.

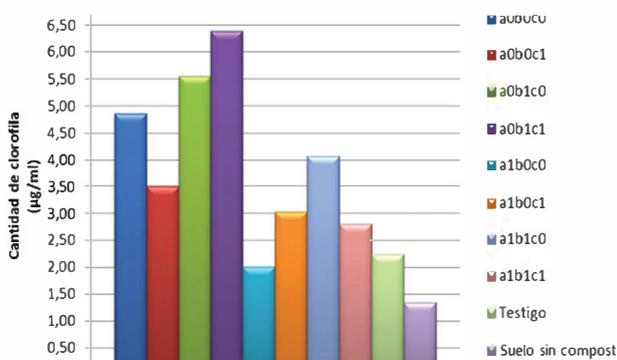


Figura 6. Cantidad total de clorofila en las hojas de rábano

3.4 Comparación de macronutrientes del mejor tratamiento con el testigo

Al comparar la cantidad de nitrógeno, fósforo y potasio presentes en los abonos orgánicos se puede llegar a la conclusión que al momento de aplicar las hojas de borraja en una dosificación del 10 % incrementa la cantidad de los macronutrientes anteriormente mencionados, en comparación a la prueba testigo a la cual no se aplicó ninguna clase de acelerante como se lo puede apreciar en la Figura 7.

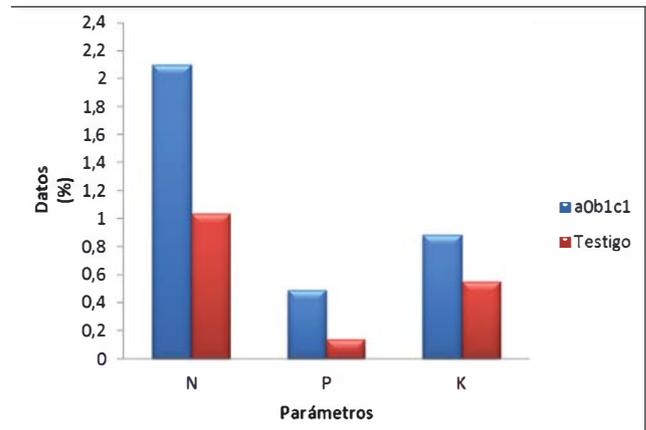


Figura 7. Comparación de los resultados de los nutrientes entre el mejor tratamientos y la prueba testigo

Al evaluar el peso y la cantidad de clorofila se compara directamente la cantidad de nitrógeno, fósforo, y potasio ya que el nitrógeno ayuda al desarrollo de las hojas y además forma parte de compuestos que son precursores de la clorofila, mientras tanto que el potasio es nutriente esencial para el desarrollo de flores, semillas y frutos, por otro lado el fósforo ayuda al desarrollo radicular de la planta.

4. CONCLUSIONES

A nivel experimental se estudió los tiempos de compostaje en función del enriquecimiento del sustrato con acelerantes como borraja (*Borago officinalis* L.) y ortiga (*Urtica dioica* L.) obteniendo resultados satisfactorios al utilizar como acelerante las hojas borraja en una dosificación del 10 % en base al peso de la materia orgánica.

El enriquecimiento del abono orgánico con borraja y ortiga demostró un claro efecto positivo en el cultivo de rábanos, tomando como parámetros de control el peso y la cantidad de clorofila total después de los 25 días cultivado. De esta manera, se observó que los nutrientes contenidos en los abonos orgánicos son asimilables por las plantas ya que la cantidad de clorofila y pesos de los rábanos quedaron asimismo evidenciados por el incremento en la composición de macronutrientes (N, P, K).

REFERENCIAS

APROBORCA. (2011). Reseña histórica de los abonos orgánicos a nivel mundial. from http://aproborca.blogspot.com/2011/04/resena-historica-de-los-abonos_5234.html

Boulter J. L., Boland G. J., y Trevors J. T. (2002). Evaluation of composts for suppression of dollar spot (*Sclerotinia homoeocarpa*) of turfgrass. *Plant Disease*, 86(4), 405-410.

Carpenter-Boggs L., Reganold J. P., y Kennedy A. C. (2000). Effects of Biodynamic Preparations on Compost Development. *Biological Agriculture & Horticulture: An International Journal for Sustainable Production Systems*, 17(4), 313-318.

Carriello M., Castañeda L., Riobo I., y Gonzales J. (2007). Inoculante de microorganismos endógenos para acelerar el proceso de compostaje de residuos sólidos urbanos. *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal* 7(3), 26-37.

Clesceri L. S., Greenberg A. E., y Eaton A. D. (1998). Standard methods for the examination of water and wastewater (20th ed ed.). Washington DC (USA): American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Environment Federation (WEF).

Ebrahimi A., Moaveni P., y Farahni H. A. (2010). Effects of planting dates and compost on mucilage variations in borage (*Borago officinalis* L.) under different chemical fertilization systems *International Journal for Biotechnology and Molecular Biology Research*, 1(5), 58-61.

Herrmann R., y Shann J. (1997). Microbial community changes during the composting of municipal solid waste. *Microbial Ecology*, 33, 78-85.

ISWA. (2014). Globalisation and Waste Management. Viena (Austria): International Solid Waste Association.

Komilis D. P. (2006). A kinetic analysis of solid waste composting at optimal conditions. *Waste Management*, 26(1), 82-91.

Richard T. L., Hamelers H. V. M., Veeken A., y Silva T. (2002). Moisture Relationships in Composting Processes. *Compost Science and Utilization*, 10(4), 286-302.

Turinek M., Grobelnik-Mlakar S., Bavec M., y Bavec F. (2009). Biodynamic agriculture research progress and priorities. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 24(2), 146-154.

Val J., Heras L., y Monge E. (1985). Nuevas ecuaciones para la determinación de pigmentos fotosintéticos en acetona. *Anales de la Estación Experimental Aula Dei*, 17(3/4), 231-238.

WSU. (2014). Compost Fundamentals. Compost Needs - Materials and Methods to ensure quality compost. from http://whatcom.wsu.edu/ag/compost/fundamentals/needs_temperature.htm

Wu L., Ma L., y Martínez G. (2000). Comparison of methods for evaluating stability and maturity of biosolids compost. *Journal of Environmental Quality*, 29(2), 424-429.

EVALUACIÓN DEL PROCESO DE MADURACIÓN DE LA UVILLA (*Physalis peruviana* L.) MEDIANTE LA CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES, ALMIDÓN E INVERTASA PARA DETERMINAR EL TIEMPO ADECUADO DE COSECHA.

EVALUATION OF CAPE GOOSEBERRY (*Physalis peruviana* L.) MATURATION PROCESS) BY THE QUANTIFICATION OF SUGARS, STARCH AND INVERTASE TO DETERMINE THE SUITABLE HARVEST TIME

V. Herrera , C. Carpio*

Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.
Campus Académico Huachi: Av. Los Chasquis y Río Payamino, Ambato (Ecuador)

Artículo recibido: 15/05/14

Artículo aceptado: 15/11/14

RESUMEN

El presente trabajo de investigación, se orientó a seguir el proceso de maduración de la uvilla (*Physalis peruviana* L.) con tutorio y sin tutorio, mediante la cuantificación de almidón, azúcares y la cinética de hidrólisis de la sacarosa catalizada por la invertasa.

Se evidenció que el contenido promedio de almidón y azúcares así como la actividad de la invertasa fue mayor en las muestras de uvilla cultivadas con tutorio durante los tres estados de madurez estudiados. Así, el contenido promedio de almidón en la uvilla verde sin tutorio fue de $6,48 \pm 0,58$ g almidón/100 g de uvilla seca, mientras que en uvilla verde con tutorio fue de $9,63 \pm 0,30$ g almidón/100 g de uvilla seca y descendió en los dos casos a medida que avanzó el proceso de maduración hasta $2,70 \pm 0,55$ g almidón/100 g de uvilla seca, en uvilla cultivada con tutorio y $2,82 \pm 0,62$ g almidón/100 g de uvilla seca en uvilla que crecieron sin tutorio.

El contenido de glucosa presente en uvilla maduras sin tutorio fue de $3,38 \pm 0,08$ g glucosa/100 g de uvilla seca, y para uvilla maduras con tutorio fue de $3,674 \pm 0,02$ g glucosa/100 g de uvilla seca, y la actividad de la invertasa determinada a través del contenido de azúcares reductores producidos por la acción hidrolítica de la enzima sobre sacarosa fue más alta en el extracto obtenido a partir de uvilla maduras: $0,62 \pm 0,03$ mg/ml para uvilla cultivadas sin tutorio y $0,86 \pm 0,02$ mg/ml en uvilla maduras con tutorio .

Consecuentemente, la aplicación del tutorio brinda mejores resultados en el cultivo de la uvilla debido a que proporciona un soporte a la planta, mejor aireación en el fruto y la oportunidad de aprovechar de una mejor manera la luz solar, como se constata en los niveles más altos de almidón, glucosa, e invertasa obtenidos con tutorio que constituye el mejor tratamiento.

Palabras clave: uvilla, *Physalis peruviana* L, tutorio, almidón, invertasa, maduración, cosecha.

ABSTRACT

The present research was aimed at following the cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) maturation process with tutoring and without it by quantifying starch and sugars content as well as by determining the kinetics of saccharose hydrolysis by invertase.

It was observed that the average content of starch and sugars as well as the activity of invertase was higher at three selected maturation stages, for cape gooseberry grown with tutoring. Thus, the mean content of starch in green gooseberry was $9,63 \pm 0,30$ - and $6,48 \pm 0,58$ g starch/100 g dry weight for fruits grown with and without tutoring. While the glucose content in cape gooseberry grown with and without tutoring was $3,67 \pm 0,02$ and $3,38 \pm 0,08$ for mature fruits, respectively. On the other hand, it was noticed that the highest invertase activity was developed by the mature fruits as confirmed by the concentration of reducing sugars produced by the hydrolytic action of invertase which was $0,86 \pm 0,02$ mg/ml for mature fruit with tutoring and $0,62 \pm 0,03$ mg/ml for extracts from samples cultivated without tutoring.

It is evident that the implementation of tutoring provides better results in the cultivation of the cape gooseberry because it gives support to the plant, better aeration to the fruit and the opportunity to get advantage in a better way from sunlight. This is confirmed by the highest starch, glucose and invertase levels obtained in samples from this treatment.

Keywords: Cape gooseberry, *Physalis peruviana* L, tutoring, starch, invertase, maturation, harvesting.

La uvilla (*Physalis peruviana* L.) es una fruta de origen americano, rica en vitaminas A y C, Calcio y Fósforo; contribuye a la purificación de la sangre, elimina la albúmina de los riñones, reconstruye y fortifica el nervio óptico, y es muy eficaz en el tratamiento de afecciones de la garganta, también se le atribuye propiedades calcificadoras, es recomendada en dietas para el control de la diabetes (Puente L. A., et al., 2011); sus propiedades diuréticas ayudan en el tratamiento de los problemas de próstata y el zumo de uvilla madura sirve para curar cataratas aplicando unas gotas diariamente (Rotger C., 2014).

Las condiciones favorables del clima y suelo del Ecuador, permiten una producción agrícola de calidad para el mercado nacional e internacional. En el caso de la uvilla, la planta se siembra principalmente en la Sierra hasta 3500 msnm (Altamirano M., 2010).

Entre las distintas labores agrícolas que se llevan a cabo para cultivar la uvilla está el tutorado, práctica que consiste en ubicar convenientemente los tallos y ramas de la planta para facilitar la poda, deshierba, control fitosanitario, riego y cosecha (Altamirano M., 2010).

Zapata et al. (2002) y Reinel et al. (2008) de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria señalan que existen varios sistemas de tutorado y amarre para el cultivo, que dependen de la región y del material genético que se emplea en la siembra. El sistema más utilizado permite la formación de la planta en "V", que facilita la disponibilidad de la luz y favorece la aireación del cultivo, lo cual permite reducir el ambiente favorable para el desarrollo de enfermedades; igualmente facilita las labores agrícolas antes mencionadas. El tutorado se debe instalar inmediatamente después del trasplante para mantener la arquitectura esperada; esto mejora la calidad de la fruta.

En el país la práctica del tutorado es más frecuente en productores que cultivan uvilla para exportación. En la provincia de Tungurahua básicamente la producción se destina a consumo local. Los mayores productores dentro de la provincia son los agricultores y productores de uvilla del cantón Quero, especialmente los productores pertenecientes a la Asociación Tierra Productiva, los mismos que emprendieron en un proyecto de mejoramiento agroindustrial de la uvilla, mediante el uso de abono orgánico y manejo tecnológico adecuado para incrementar su producción, evitando el empleo de fungicidas químicos con el claro objetivo de mejorar el nivel de vida de los socios y disminuir la contaminación ambiental.

Además de la comercialización directa de la fruta, el organismo artesanal posee una microempresa con los equipos necesarios para producir helados, mermelada de uvilla.

Actualmente, elaboran helados con esta y otras frutas que se producen en el cantón los cuales son comercializados en Tungurahua. Todas estas aplicaciones requieren la utilización de la fruta con el grado de madurez apropiada. Por esta razón el objetivo de este estudio fue la evaluación cuantitativa, no subjetiva, de parámetros como el contenido de almidón, carbohidrato de reserva movilizado durante la maduración y sacarosa translocada de la planta al fruto y demás azúcares del fruto en función de su grado de madurez para establecer una adecuada correlación con parámetros subjetivos como la coloración del cáliz y del fruto y, a la vez proponer el empleo de mediciones sencillas como los grados Brix y el pH para optimizar el empleo de esta fruta, además verificar la presencia de invertasa una de las enzimas que se encuentran presentes en la maduración de frutas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materiales

La recolección de información para los parámetros de cosecha de la uvilla se realizó tomando en cuenta tres estados de madurez (verde, pintona y madura) con muestras de uvilla producidas mediante dos técnicas diferentes de cultivo, realizadas en un lote de terreno del cantón Quero.

Los reactivos utilizados fueron: α -amilasa termoestable (Termamyl 120 L, Novozymes) y amilogucosidasa de *Aspergillus niger* (AMG 300 L, Novozymes), ácido 3,5 dinitro salicílico (DNS) (Merck), kit para cuantificar glucosa GLUCOSA MR (Linear Chemicals S.L), Columna de Sephadex G-25 (General Electric - Healthcare), KOH, HCl y demás reactivos de grado analítico.

2.2 Métodos

2.2.1 Preparación de las muestras para análisis

Muestras de uvilla de 6,83 g y 5,5 ml en tres estados de madurez: verde, pintona, madura, fueron lavadas y secadas para su utilización.

Para las determinaciones de almidón y azúcares se realizó la molienda en un mortero, y se preparó la muestra como se describe a continuación: De las muestras líquidas producidas con uvillas pintonas y maduras, se tomó 5,5 ml de muestra y para las muestras de uvilla verde (muestra no líquida) se tomó 6,83 g.

A cada muestra se añadió 8 ml de etanol al 80 %, y luego de 1 hora de agitación se centrifugó a 4000 rpm, durante 20 minutos. Este procedimiento se realizó con 5 alícuotas por cada muestra para obtener el volumen necesario para los análisis. Se colectó el sobrenadante de los 5 tubos, se evaporó el etanol en un Rotavapor a 78 °C, se recogió el concentrado para análisis de azúcares

totales, azúcares reductores y glucosa, una vez medido el volumen se almacenó en refrigeración hasta realizar cada una de las réplicas del ensayo. El precipitado se utilizó para análisis de almidón luego de secarlo a 40 °C hasta obtener un polvo libre de humedad.

2.2.2 Cuantificación de almidón

En tubos de polipropileno de 15 ml se colocó 50 mg de muestra (polvo seco de uvilla obtenido a partir del precipitado de la extracción con etanol), se añadió bajo agitación 1 ml de agua (H₂O) destilada y 1 ml de hidróxido de potasio 4 M. Se incubó la suspensión por 2 horas (con agitación magnética). A continuación se añadió 2 ml de buffer acetato 0,2 M de pH 4,5, 1 ml de ácido clorhídrico 2 M y se reguló el pH hasta llegar a 6,0 con HCl 2 M, 0,5 M y 0,1 M, para un fácil ajuste del pH. Seguidamente se agregó 20 µl de α-amilasa termoestable y se incubó la mezcla a ebullición durante 30 minutos con agitación intermitente (cada 5 minutos).

Luego de la hidrólisis parcial del almidón se agregó 1 ml de buffer acetato 0,2 M de pH 4,5 y se reguló el pH a 4,5, valor óptimo para la amiloglucosidasa. Finalmente, se agregó 20 µl de amiloglucosidasa y se llevó a incubación a 50 °C por 2 horas, para producir la hidrólisis completa del almidón y se centrifugó la solución a 4000 rpm.

Para la cuantificación de la glucosa generada por la hidrólisis de almidón se utilizó el método de Miller (1959). Con este propósito se preparó una curva estándar de glucosa partiendo de una solución madre de 1 mg/ml con la cual se prepararon diluciones que contienen (0,2; 0,4; 0,6; 0,8 y 1 mg/ml). A 1 ml de cada estándar se agregó 1 ml de solución de DNS, se agitó y se llevó a ebullición durante 5 minutos, luego de los cuales se enfrió en un baño de agua fría, se agregó 8,6 ml del agua destilada, se agitó, y se procedió a leer las absorbancias en un espectrofotómetro (Termo Scientific 4001-000 Genesys 20), a 540 nm, frente a un blanco preparado de idéntica manera con 1 ml de agua destilada.

Para la cuantificación de la glucosa en las muestras, se tomó una alícuota de 0,2 ml de muestra centrifugada, se añadió 0,8 ml de agua destilada, se adicionó con agitación 1 ml de solución de DNS y se procedió de idéntica forma que con los estándares. El contenido de glucosa se obtuvo a partir de la ecuación que relaciona la concentración de glucosa con la absorbancia a partir de la curva estándar (Ec. 1). El contenido de almidón se calculó mediante la Ecuación 2.

$$\text{Absorbancia} = 0,4879 \cdot C + 0,0079$$

Ecuación 1

$$\% \text{Almidón}(\text{uvilla_verde}) = \frac{\frac{C \cdot VA \cdot FT \cdot M}{MI}}{\frac{MT}{MS}}$$

Ecuación 2

Donde:

C: Concentración de glucosa obtenida a partir de la absorbancia de la muestra (mg/ml),

VA: Volumen al cual se aforó la muestra (ml),

FT: Factor de transformación de glucosa a almidón (adimensional),

M: Masa de la alícuota de la muestra (g),

MI: Masa inicial necesaria en el análisis (g),

MT: Masa total de muestra (g)

MS: Masa seca en 1 g de uvilla (g).

2.2.3 Cuantificación de glucosa

Para la cuantificación de glucosa se utilizó el método enzimático colorimétrico de Trinder (1969) con el reactivo GLUCOSA MR (R1) (Linear Chemicals S.L). Con este fin se preparó una curva estándar en el rango comprendido entre 0,1 y 0,2 mg/ml a partir de la solución proporcionada por el fabricante cuya concentración es de 100 mg/dL = 1 mg/ml; 5,55 mmol/L, el volumen utilizado de cada estándar fue de 200 µL al cual se agregó 2 ml de R1 (Monoreactivo: Tampón fosfato 100 mmol/L pH 7,5, glucosa oxidasa > 10 KU/L, peroxidada > 2 KU/L, 4-aminoantipirina 0,5 mmol/L, fenol 5 mmol/L). Luego de mezclar cada tubo se dejó reposar 15 minutos a temperatura ambiente y, se leyeron las absorbancias (A) de las muestras y de cada patrón a 500 nm en el espectrofotómetro (Termo Scientific 4001-000 Genesys 20) frente al blanco de reactivo, preparado con 200 µL de agua destilada y 2 ml de R1. Las muestras, protegidas de la luz, se leyeron en el espectrofotómetro antes de dos horas tras su preparación. Para el análisis de glucosa en las muestras de uvilla, en los 3 estados de madurez, se tomó 200 µL del sobrenadante libre de etanol (evaporado con la ayuda del Rotavapor a 78 °C) y se añadió 2 mL de R1. El contenido de glucosa se cuantificó mediante las Ecuaciones 3 y 4:

$$\text{Absorbancia} = 3,236 \cdot C - 0,0004 \quad \text{Ecuación 3}$$

$$\% \text{Glucosa}(\text{uvilla_verde}) = \frac{\frac{C \cdot VR}{MI}}{\frac{MS}{MS}} \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde:

C: Concentración de glucosa obtenida de la absorbancia de la muestra medida a 500 nm (mg/ml),
VR: Volumen obtenido del Rotavapor (ml),
MI: Masa inicial requerida para el análisis (g),
MS: Masa seca en 1 g de uvilla (g).

2.2.4 Cuantificación de azúcares reductores

En la cuantificación de azúcares reductores se utilizó DNS (Miller G. L., 1959). Para esta determinación se mezcló 1 ml de muestra concentrada de uvilla obtenida del sobrenadante del extracto etanólico en cada uno de sus tres estados de madurez con 1 ml de solución de DNS, el porcentaje de azúcares reductores se obtuvo mediante la Ecuación 1 y la Ecuación 5.

$$\%Azúcares\ reductores = \frac{C \cdot VR}{MS} \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde:

C: Concentración de azúcares reductores obtenidos de la absorbancia de la muestra (mg/ml),
VR: Volumen obtenido del Rotavapor (ml),
MI: Masa inicial requerida para el análisis (g),
MS: Masa seca en 1 g de uvilla (g).

2.2.5 Determinación de la actividad enzimática de la invertasa.

La actividad enzimática de la invertasa se determinó mediante la cuantificación de la cantidad de azúcares reductores (glucosa y fructosa) producidos a partir de la hidrólisis de la sacarosa.

Para este ensayo se utilizó polvo seco de uvilla obtenido mediante tres extracciones con acetona al 80% y dos extracciones con acetona al 100%, a partir de 4 g de uvilla (en cada uno de sus tres estados de madurez) previamente molida en un mortero con hielo seco para obtener un polvo fino, al cual se añadió 10 ml de acetona a -10 °C.

Luego de cada extracción se centrifugó a 4000 rpm durante 15 min a 4 °C. Las fases de disolvente se descartaron, y el sedimento final se secó a temperatura ambiente hasta obtener el polvo seco que contenía las enzimas de la uvilla. El polvo seco, fue almacenado en congelación hasta su utilización como fuente de enzima en la determinación de la actividad enzimática.

2.2.6 Extracción de la enzima, a partir del precipitado obtenido con acetona

Se incubó 150 mg de polvo seco de uvilla en 3 ml de buffer citrato/fosfato 10/20 mM de pH 6 con 0,5 M de cloruro de sodio (Tampón de extracción) durante 1 hora, a 4 °C.

Los tubos se centrifugaron a 4000 rpm, dos veces por 20 minutos; los sobrenadantes claros (2,5 ml) se gelfiltraron en una columna de Sephadex G-25. La invertasa se eluyó de la columna con tapón de extracción (3,5 ml) y fue utilizada en la determinación de actividad.

Para la determinación de la actividad enzimática se verificó el tiempo de reacción catalizado por la invertasa durante el cual la velocidad de formación de producto es constante y máxima. Por esta razón se determinó la cinética de formación de producto durante 4 h a 40 °C. Para el ensayo se tomó 0,5 ml de extracto enzimático más 0,5 ml de sustrato (sacarosa 300 mM en buffer de actividad: tampón citrato fosfato sin adición de NaCl), y cada hora se detuvo la reacción con 1 ml DNS (Miller G. L., 1959), a continuación se hirvió las muestras por 5 minutos, se añadió 8,6 ml de agua destilada y se determinó la absorbancia a 540 nm. La preparación del blanco se realizó invirtiendo el orden de adición de los reactivos, es decir, colocando 0,5 ml del extracto enzimático, inactivándolo con 1 ml de DNS para luego añadir 0,5 ml de sustrato (sacarosa). En tubos de vidrio resistentes al calor.

Adicionalmente, se determinó el peso de la uvilla, el contenido de sólidos solubles de las muestras utilizando un medidor del índice de refracción (°Brix) y el pH con un potenciómetro, junto con los valores de porcentaje de humedad.

2.2.7 Diseño Experimental

Tanto para la cuantificación de almidón como para la estimación del contenido de glucosa se utilizó un diseño de bloques con arreglo factorial AxB (Tabla 1) y para la determinación de la actividad de la invertasa se empleó un diseño de bloques con arreglo factorial AxBxC con 2 réplicas para cada tratamiento (Tabla 2). Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza, con el 95 % de confianza, y una prueba de comparación múltiple (Tukey) al encontrar diferencia significativa en los tratamientos.



Tabla 1 Factores para el diseño experimental para cuantificación de almidón, glucosa en uvilla

Factor A = Estados de madurez	
a ₀	Verde
a ₁	Pintona
a ₂	Madura
Factor B = Aplicación de Tutoreo	
b ₀	Con Tutoreo
b ₁	Sin Tutoreo

Tabla 2. Factores para el diseño experimental de la actividad invertásica en extractos de uvilla.

Factor A = Aplicación de Tutoreo	
a ₀	Tutoreo
a ₁	Sin Tutoreo
Factor B = Estados de Madurez	
b ₀	Verde
b ₁	Pintona
b ₂	Madura
Factor C = Tiempo de cinética de hidrólisis enzimática	
c ₀	1 Hora
c ₁	2 Horas
c ₂	3 Horas
c ₃	4 Horas

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El crecimiento de las frutas se evidencia mediante el incremento en la masa de las mismas conforme avanza su desarrollo. Se observó que el crecimiento del fruto fue mayor para uvillas cultivadas con tutoreo a los tres estados de madurez; así, para uvillas verdes el peso promedio fue $3,54 \pm 0,17$ g frente a $1,62 \pm 0,17$ g de los frutos cultivados sin tutoreo, veces mayor que el determinado para uvillas sin tutoreo y para uvillas maduras la relación de pesos ($8,28 \pm 0,55$ versus $4,67 \pm 0,37$) fue de 1,77 veces. Estos resultados ponen de manifiesto la influencia positiva del tutoreo. La generalidad de frutas tiene un contenido mayor de almidón cuando no han alcanzado su madurez.

Uno de los procesos que se desarrollan durante la maduración es la reducción en el contenido de almidón y el incremento en la cantidad de azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa) así como una variación en el pH de la fruta como se aprecia en la Tabla 3. El mayor contenido de sólidos solubles se obtuvo con uvillas maduras cultivadas con tutoreo.

Tabla 3. Valores de °Brix, pH, Almidón, Glucosa y azúcares reductores en la uvilla (*Physalis peruviana* L.) verde, pintona y madura con y sin tutoreo. (n = 3)

Uvilla cultivada	Índice de refractometría	pH	Almidón g/100 g uvilla seca	Glucosa g/100 g uvilla seca	Azúcares reductores g/100 g uvilla seca
SIN TUTOREO					
Verde	6,0	5	6,48±0,58	0,375±0,02	0,96±0,01
Pintona	9,0	4	5,66±0,52	1,694±0,03	3,65±0,03
Madura	14,3	4	2,82±0,62	3,377±0,08	6,65±0,09
CON TUTOREO					
Verde	8,0	5	9,63±0,30	0,472±0,03	1,43±0,05
Pintona	11,0	4	7,69±0,46	2,049±0,02	4,59±0,27
Madura	15,2	4	2,70±0,55	3,674±0,02	7,10±0,05

3.1 Cuantificación de almidón

En la Tabla 3 se observa los porcentajes de almidón en uvillas cultivadas con y sin tutoreo. Los resultados revelan que existe un contenido más alto de almidón en uvillas cultivadas con tutoreo, a los tres estados de madurez. Se observa además, el descenso en el contenido de almidón a medida que la fruta madura. En uvilla con tutoreo el contenido de almidón fue de $9,63 \pm 0,30$ g /100 g de uvilla verde (en base seca) y se redujo en un 72 % en uvillas maduras. Para uvilla sin tutoreo la disminución fue del 56,5 %, de $6,48 \pm 0,58$ g de almidón/100 g de uvilla verde (en base seca) a $2,82 \pm 0,62$.

3.2 Contenido de glucosa

La presencia de glucosa se debe al aporte de dos fuentes, por un lado la degradación del almidón y por otro la hidrólisis parcial de la sacarosa sintetizada por la planta.

En la cuantificación de glucosa se analizó también muestras de uvilla en los tres estados de madurez elegidos, con y sin tutoreo, por triplicado, obteniendo los valores que se muestran en la Tabla 3.

Se observa que existe mayor presencia de glucosa en las uvillas maduras con tutoreo con una media de 3,67 % frente a 3,37 % en uvillas maduras sin tutoreo, es decir el tutoreo favoreció la síntesis de una mayor cantidad de glucosa en la uvilla en su última etapa de madurez.

3.3 Cuantificación de azúcares reductores

El resultado del análisis de azúcares reductores mediante la técnica de Miller (1959) con solución de DNS para las muestras de uvilla en los tres estados de madurez con y sin tutoreo, realizada por triplicado, se presentan en la Tabla 3.



Estos valores muestran que el contenido de azúcares reductores presentes en uvilla con tutoreo alcanza un valor de $7,10 \pm 0,05$ g por 100 g de uvilla madura seca, mayor en relación a la media de $6,65 \pm 0,09$ g de azúcares reductores por 100 g de uvilla madura sin tutoreo, demostrando que el tutoreo en la uvilla influye en la concentración de azúcares reductores.

3.4 Actividad enzimática de la invertasa

La actividad enzimática de la invertasa extraída a partir de muestras de uvilla de tres grados de madurez, cultivada con tutoreo y sin tutoreo se determinó por medio de la cuantificación de los azúcares reductores (Miller G. L., 1959) producidos a partir de la hidrólisis de la sacarosa durante 4 h de reacción, ya que la invertasa escinde el enlace glicosídico que une los dos componentes (glucosa y fructosa) de este disacárido no reductor, la sacarosa.

Los resultados de la cinética de hidrólisis se presentan en las Figuras 1 y 2, para la invertasa extraída a partir de muestras de uvilla cultivada sin tutoreo y con tutoreo, respectivamente. En los dos casos se observa que la invertasa extraída a partir de uvillas maduras es más activa que la proveniente de uvillas pintonas y verdes. La concentración de producto luego de 4 horas de hidrólisis fue $1,06 \pm 0,03$ mg/ml de azúcares reductores para uvilla sin tutoreo y para uvillas con tutoreo la media fue de $1,39 \pm 0,03$ mg/ml de azúcares reductores. Como se observa en las Figura 1 y 2 la aplicación del tutoreo en la uvilla aporta notablemente en la cinética de formación de producto, existiendo una diferencia significativa en los resultados obtenidos, es decir una mayor actividad de la invertasa debido a que la planta obtiene una mejor entrada de luz, ayuda en el soporte de sus ramas, etc. mejorando la calidad del fruto.

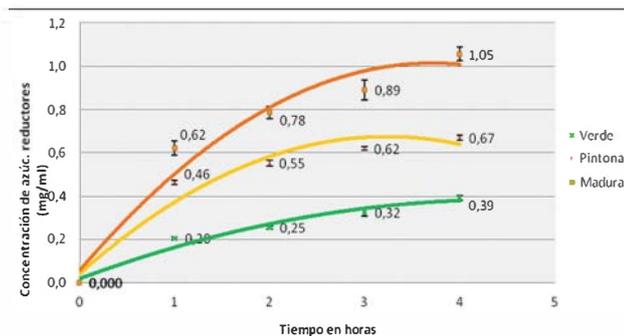


Figura 1. Cinética de hidrólisis de sacarosa catalizada por la invertasa extraída a partir de uvilla (*Physalis peruviana* L.) con tres grados de madurez, cultivada sin tutoreo

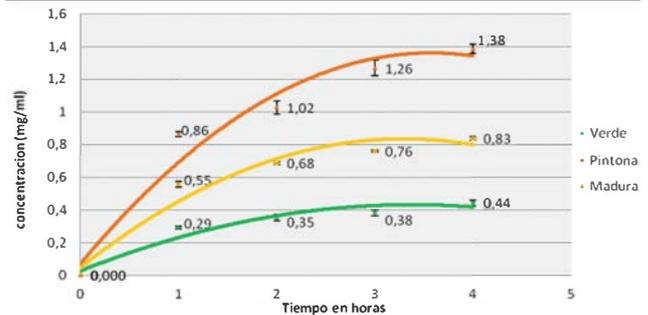


Figura 2. Cinética de hidrólisis de sacarosa catalizada por la enzima invertasa extraída a partir de Uvilla (*Physalis peruviana* L.), cultivada con tutoreo.

4. CONCLUSIONES

Este estudio contrasta el efecto de la aplicación de tutoreo en el desarrollo del fruto y en el tiempo de maduración de la uvilla, evidenciando que tamaños mayores del fruto y niveles más altos de concentración en cada uno de los parámetros analizados (almidón, azúcares, actividad invertásica) se obtienen con uvilla cultivadas con tutoreo. Se observó que estas diferencias son significativas con relación a un fruto en el que no se aplica tutoreo, es decir el tutoreo facilita el desarrollo y la maduración del fruto de la uvilla.

El contenido de almidón en uvillas verdes expresado en g de almidón/100 g de uvilla en base seca fue de $9,63 \pm 0,30$ para uvillas cultivadas con tutoreo y de $6,48 \pm 0,58$ para uvillas sin tutoreo, como era de esperarse la disminución en el almidón dio lugar a la formación de azúcares; el contenido de glucosa varió entre $3,67 \pm 0,02$ g glucosa/100 gramos uvilla con tutoreo madura seca, y $3,38 \pm 0,08$ gramos uvilla sin tutoreo madura seca.

El nivel de invertasa fue mayor para uvillas maduras. La formación de producto (glucosa) catalizada por esta enzima fue de $1,39 \pm 0,03$ mg/ml en uvillas maduras con tutoreo y $1,06 \pm 0,03$ mg/ml en uvilla maduras sin tutoreo. El análisis estadístico determinó que las variaciones producidas en estos parámetros son significativas en los tres estados de madurez.

En la investigación se relacionó las variaciones que sufre la uvilla desde su primera etapa de desarrollo, fruto verde, con altos niveles de almidón hasta su disminución y conversión en azúcares que se manifiesta en el incremento de grados Brix (parámetro de fácil determinación), y se ve reflejado en propiedades físicas como el color del fruto que comienza con tonalidad verde y adquiere un tono naranja intenso cuando alcanza el estado de madurez; sin embargo, la coloración del capuchón no siempre revela la madurez del fruto debido a múltiples factores como enfermedades en la planta, mal formación del capuchón, etc.

Todo el estudio y la correlación entre estos parámetros están encaminados al mejor aprovechamiento al momento de cosechar la uvilla y, a que el agricultor logre apreciar el estado de madurez y lo asocie con el contenido de azúcares que posee el fruto al momento de la recolección, particularmente en función de la aplicación que se le vaya a dar.

REFERENCIAS

Altamirano M. (2010). Estudio de la cadena productiva de la uvilla (*Physalis peruviana* L.) en la Sierra norte del Ecuador., Universidad San Francisco de Quito, Quito (Ecuador).

Miller G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426-428.

Puente L. A., Pinto-Muñoz C. A., Castro E. S., y Cortés M. (2011). *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. *Food Research International*, 44(7), 1733-1740.

Reinel H., Brito B., y García M. C. (2008). Desarrollo tecnológico para el fortalecimiento del manejo postcosecha de frutas exóticas exportables de interés para los países andinos: uchuva (*Physalis peruviana* L.), granadilla (*Passiflora ligularis* L.) y tomate de árbol (*Solanum betaceum* (Cav.) Sendtn.). PROYECTO FTG 14-2003: CORPOICA, INIAP, CIAT, PROEXANT, CIRAD.

Rotger C. (2014). Propiedades y composición del Physalis o Alquequenjes. *Cocina y Salud. Recetas de cocina internacional y consejos de salud.*, from <http://www.cocinasalud.com/propiedades-y-composicion-del-physalis-o-alquequenjes/>

Trinder P. (1969). Determination of glucose in blood using glucosa oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Annals of Clinical Biochemistry*, 6(1), 24-28.

Zapata J., Saldarriaga A., Londoño M., y Díaz C. (2002). Manejo del Cultivo de la Uchuva en Colombia. Rionegro (Colombia): Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA).

EFECTO DEL GRADO DE MADURACIÓN Y ZONA DE CULTIVO EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LA MANDARINA (*Citrus reticulata*)

MATURATION STAGE AND GROWING AREA EFFECT ON THE PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERISTICS OF TANGERINE (*Citrus reticulata*)

S. Aguagüña, D. Robalino* , J. de D. Alvarado

Universidad Técnica de Ambato (UTA), Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos,
Av. Los Chasquis y Río Payamino, Ambato, Ecuador.

Artículo recibido: 06/05/14

Artículo aceptado: 16/11/14

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como propósito la evaluación del efecto del grado de maduración y zona de cultivo en las características físicas y químicas de la mandarina. Se planteó un diseño experimental completamente aleatorizado para evaluar y comparar los valores obtenidos de las características físicas y químicas de la mandarina proveniente de Patate y Baños, a tres grados de maduración (verde, pintón y maduro). Se trabajó con 50 muestras para la fruta y 10 observaciones con dos replicas para la pulpa y jugo para cada una de las propiedades. En la fruta entera se determinó: tamaño, forma, volumen, peso, porcentaje de cáscara, porcentaje de pulpa, porcentaje de semilla, densidad y gravedad específica; en la pulpa se determinó: porcentaje de humedad, porcentaje de sólidos totales, acidez, pH, sólidos solubles (°Brix), índice de refracción y difusividad térmica; y en el jugo se determinó: porcentaje de humedad, porcentaje de sólidos totales, acidez, pH, sólidos solubles (°Brix), índice de refracción, y gravedad específica, densidad, calor específico, difusividad térmica y viscosidad a 5, 15, 25, 35 y 45 °C. Para los cálculos, se consideraron los valores promedios de las dos réplicas en el caso de la pulpa y el jugo. Se establecieron diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos, por lo que se concluye que tanto la zona de cultivo (Patate y Baños) como el grado de maduración (verde, pintón y maduro) influyen en las características físicas y químicas de la fruta, pulpa y jugo de mandarina. Las correlaciones entre las propiedades de la fruta, pulpa y jugo, dieron como resultado 93 mejores correlaciones, considerando el coeficiente de correlación de 0,8 a 1 y de -0,8 a -1.

Palabras clave: mandarina, características físicas, maduración, características químicas.

ABSTRACT

The present study was aimed to evaluate the effect of the degree of maturation and growing area in the physical and chemical characteristics of the tangerine. A completely randomized experimental design was raised to evaluate and compare the values of the physical and chemical characteristics of Patate and Baños tangerine, at three levels of maturity: green, "pintón" (half ripened) and mature or completely ripened. We worked with 50 tangerines samples for the fruit, and 10 observations with two replicas for the pulp and juice for each of the properties. In the whole fruit was determined: size, shape, volume, weight, percentage of the peel, percentage of pulp, percentage of the seed, density and specific gravity; in the pulp was determined: percentage of moisture, percentage of total solids, acidity, pH, soluble solids (°Brix), refractive index and thermal diffusivity; and in the juice was determined: percentage of moisture, percent total solids, acidity, pH, soluble solids (°Brix), refractive index and specific gravity, density, specific heat, thermal diffusivity and viscosity at 5, 15, 25, 35 and 45 °C. To calculate, the average values of the two replicas were considered in the case of pulp and juice. Significant differences were established between each of the treatments, it is concluded that both the cultivation area (Patate and Baños) and the degree of maturation (green, "pintón" and ripe) influence the physical and chemical characteristics of the fruit, pulp and juice tangerine. Correlations between the properties of the fruit, pulp and juice were performed, and 93 best correlations were obtained by considering the correlation coefficient of 0.8 to 1 and -0.8 to -1.

Keywords: tangerine, physical properties, ripening, chemical characteristics.

1. INTRODUCCIÓN

La mandarina es el fruto de piel anaranjada, parecido al del naranjo, pero mucho más perfumado, frágil y rico en aceites esenciales. De tamaño mediano y de forma aplastada; la carne en gajos, es azucarada y de sabor mucho menos intenso que su aroma (Cecchini T. y Cascante, 1995).

La mandarina es el fruto de las diferentes especies de cítricos llamados comúnmente mandarino, entre ellas: *Citrus reticulata*, *Citrus unshiu*, *Citrus reshni*, así como sus híbridos, incluyendo *Citrus tangerina*, cuya taxonomía está discutida. Pertenece al grupo de frutos llamados hesperidios y su pulpa está formada por un considerable número de gajos llenos de zumo o jugo; el cual contiene mucha vitamina C, flavonoides y aceites esenciales. Es el cítrico más parecido a la naranja, aunque de menor tamaño, sabor más aromático y con mayor facilidad para quitar su piel en la mayoría de las variedades, así como una acidez ligeramente inferior y una mayor proporción de azúcares simples. Estas propiedades hacen que se considere una golosina natural de fácil consumo para jóvenes y ancianos (Wikipedia, 2014).

Los cítricos se originaron hace unos 20 millones de años en el sudeste asiático. Desde entonces hasta ahora han sufrido numerosas modificaciones debidas a la selección natural y a hibridaciones tanto naturales como producidas por el hombre. Son cultivados por sus frutos de agradable sabor, sin semillas y muy fáciles de pelar, lo que hacen que sean muy atractivos para el consumidor. Han alcanzado su máximo desarrollo en las áreas subtropicales (30-40° latitud N y S). En estas áreas la producción es estacional y la calidad del fruto para el consumo en fresco es excelente. La producción de mandarinas muestra un ritmo creciente más acusado que el de las naranjas y limones (Infoagro, 2014).

La estación de cosecha de mandarinas se extiende durante varios meses, debido principalmente, a las diferentes épocas de maduración de las distintas variedades. Así, la Satsuma, en el mes de Mayo y se prolonga hasta Octubre o inicios de Noviembre (Batchelor L. D. y Webber H. J., 1948). El grado de maduración más usado para la cosecha de frutos, es el siguiente: verde, cuando no ha alcanzado a la palatabilidad de consumo; verde maduro, cuando el extremo distal del fruto presenta una coloración; verde amarillenta o pintona, cuando tiene manchas características de la variedad; maduro, cuando el fruto adquiere el color característico; y sobre-maduro: cuando ha perdido la elasticidad por deshidratación (Fernández N., 2014).

Las propiedades de los alimentos son cualidades de un alimento para distinguirse de un grupo de alimentos (Cheftel J C., et al., 1992). Las propiedades físicas son las propias de la materia de que están formadas; mientras que las propiedades químicas son los parámetros más

aplicados en la industria de los alimentos, en la cual los alimentos sufren ciertas transformaciones o modificación para su propia conservación, mejorando así las propiedades que los constituyen (Belitz H. D. y Grosch W., 1997). El presente trabajo de investigación tuvo por objetivo determinar el efecto del grado de maduración (verde, pintón y maduro) y de la zona de cultivo (Patate y Baños) en las características físicas y químicas del fruto, pulpa y jugo de mandarina.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materia prima

Se utilizó mandarina proveniente de los cantones Patate, sector San Javier y Baños, sector Ulba, con grados de maduración verde, pintón y maduro, empleando 50 unidades por cada zona de cultivo y grado de maduración.

2.2 Equipo

Balanza electrónica Mettler, balanza infrarroja, baño termostático Julabo EM a 5, 15, 25, 35 y 45 °C, estufa Fisher a 37 °C, viscosímetro Cannon, refractómetro Abbe, hidrómetro, calorímetro, desecador, brixómetro, pH-metro, calibrador o pie de rey, licuadora Osterizer y refrigeradora.

2.3 Material de laboratorio

Vasos de precipitación de 100 y 1000 ml Pirex®, probetas 100 y 1000 ml, pipetas graduadas de 10 ml, matraz Erlenmeyer de 250 ml Pirex®, buretas de 100 ml, termómetros graduados (0-250 °C), cilindros de cobre, agitadores de vidrio, cronómetros, soporte universal, anillo con su nuez, cápsulas de porcelana, espátula, pinzas, piseta o frasco lavador, lienzos, papel aluminio y utensilios variados (cuchillos, platos, bandejas, baldes).

2.4 Reactivos

Agua destilada, hidróxido de sodio 0.1 N, fenolftaleína y alcohol antiséptico de 96%, de grado analítico.

2.5 Determinación de las características físicas de los frutos

La longitud se midió el diámetro mayor y menor de la fruta con el calibrador o pie de rey, y se determinó el valor promedio de los dos diámetros. El volumen se determinó por picnometría, colocando alcohol antiséptico en una probeta de 1000 ml y observando el desplazamiento del volumen al introducir la fruta. El peso se determinó en cada fruto mediante gravimetría, utilizando una balanza de precisión

2.6 Determinación del % de cáscara

Se separó con cuidado y se pesó la cáscara de cada una de las frutas, con la ayuda de la balanza de precisión,

y se obtuvo el porcentaje de cáscara mediante la Ecuación 1:

$$\%Cáscara = \frac{W_c \times 100}{W_{fe}}$$

Ecuación 1

Donde:

W_c : peso de la cáscara de la fruta (kg),
 W_{fe} : peso de la fruta entera (kg).

2.7 Determinación del % de semillas

Se procedió a separar la parte comestible y carnosa, de las semillas de cada fruta, se pesaron las semillas con la ayuda de la balanza de precisión, y se obtuvo el porcentaje de semillas mediante la Ecuación 2:

$$\%Semilla = \frac{W_s \times 100}{W_{fe}}$$

Ecuación 2

Donde:

W_s : peso de la semilla de la fruta (kg)
 W_{fe} : peso de la fruta entera (kg)

2.8 Determinación del % pulpa

Para el cálculo del porcentaje de pulpa del fruto, se utilizó la Ecuación 3:

$$\%Pulpa = 100 - \%Cáscara - \%Semilla$$

Ecuación 3

Donde:

% Cáscara: proporción de peso de cáscara respecto al peso total del fruto
 % Semilla: proporción de peso de semillas respecto al peso total del fruto

2.9 Determinación de la gravedad específica

Se colocó alcohol antiséptico con 96° GL en un vaso de precipitación de 1000 ml; se procedió a pesar la fruta en el aire y sumergida en el alcohol mediante la balanza de resorte y se aplicó la Ecuación 4 para obtener el valor de la gravedad específica de la fruta:

$$G = \frac{W_{aire}}{(W_{aire} - W_{alcohol})} \times G_{alcohol}$$

Ecuación 4

Donde:

G : gravedad específica de la fruta (adimensional),
 W_{aire} : peso de la fruta, medido en el aire (kg)
 $W_{alcohol}$: peso de la fruta, medido en inmersión en alcohol (kg)
 $G_{alcohol}$: gravedad específica del alcohol 96° GL (adimensional).

Para determinar la gravedad específica del jugo, se llenó una probeta de 1000 ml con dicho jugo. A continuación, se introdujo el hidrómetro en agua destilada, se marcó el desplazamiento del agua y, finalmente, se colocó el hidrómetro en el jugo hasta obtener un valor constante.

2.10 Determinación de la densidad

La densidad de la fruta se determinó mediante la Ecuación 5:

$$\rho = \frac{m}{v}$$

Ecuación 5

Donde:

ρ : densidad (kg.m⁻³)
 m : masa (kg)
 v : volumen (m³)

Para determinar la densidad del jugo se utilizó el valor de la gravedad específica a temperaturas de 5, 15, 25, 35 y 45 °C, y los valores de la densidad del agua a las mismas temperaturas, aplicando la Ecuación 6:

$$\rho_{jt} = G \times \rho_{H_2O_t}$$

Ecuación 6

ρ_{jt} : densidad del jugo a 5, 15, 25, 35 o 45 °C (kg.m⁻³)
 $\rho_{H_2O_t}$: densidad del agua a 5, 15, 25, 35 o 45 °C (kg.m⁻³)
 G : gravedad específica (adimensional)

2.11 Determinación del índice de refracción

Se procedió a calibrar el refractómetro con agua destilada, se colocó una pequeña muestra de pulpa o jugo en el refractómetro y se obtuvo el valor de la muestra en grados Brix (°Brix)

2.12 Determinación de viscosidad

Se utilizó un baño termostático a temperaturas de 5, 15, 25, 35 y 45°C, se colocó el jugo en el viscosímetro Cannon, luego se introdujo el viscosímetro dentro del baño, se cronometró el tiempo que el jugo tardó en pasar de la primera a la segunda marca y se aplicó la Ecuación 7:

$$\mu = K * \rho * t$$

Ecuación 7

μ : viscosidad dinámica aparente (Pa·s)
 K : constante del viscosímetro ($m \cdot s^{-2}$)
 ρ : densidad ($kg \cdot m^{-3}$)
 t : tiempo que tarda el jugo en descender entre las marcas del viscosímetro (s)

2.13 Determinación del calor específico

Para la calibración de calorímetro se acopló un termómetro a la tapa del calorímetro asegurando el aislamiento térmico con el ambiente. Se midieron 70 ml de agua destilada caliente (70 °C) en un vaso de precipitación, se incorporó en el calorímetro y se midió su temperatura. Se colocaron 70 ml de agua destilada a temperatura ambiente en un vaso de precipitación, se midió su temperatura y se colocó en el calorímetro. Se agitó el conjunto y se tomó la temperatura de equilibrio.

Para la determinación del calor específico del alimento se colocaron 50 ml de agua destilada caliente (70 °C) en el calorímetro y se registró la temperatura. Se pesaron 50 g aproximadamente del jugo de mandarina, se registró la temperatura y se incorporó inmediatamente en el calorímetro. Se agitó el conjunto y se registró la temperatura de equilibrio. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

2.14 Determinación de la difusividad térmica

Se utilizó para ello, la Ecuación 8:

$$\alpha = \frac{\kappa}{\rho \times C_p} \quad \text{Ecuación 8}$$

Donde:

α : difusividad térmica ($m^2 \cdot s^{-1}$)
 κ : conductividad térmica ($J \cdot m^{-1} \cdot K^{-1} \cdot s^{-1}$)
 ρ : densidad (kg/m^3)
 C_p : calor específico ($J \cdot kg^{-1} \cdot K^{-1}$)

2.15 Determinación de acidez

Para determinar la acidez en la pulpa y el jugo se pesaron 25 g de muestra en un matraz Erlenmeyer de 250 ml, se añadieron 50 ml de agua destilada, se mezcló bien, se añadieron dos gotitas de fenolftaleína y se procedió a titular con hidróxido de sodio 0.1 N. Se obtuvo el valor de acidez mediante la Ecuación 9:

$$A = \frac{(V_1 \times N_1 \times M) \times 10}{V_2} \quad \text{Ecuación 9}$$

Donde:

A: acidez de la pulpa o el jugo (g ácido cítrico/L producto)

V_1 : volumen de NaOH usado para la titulación de la alícuota (cm^3),
 N_1 : normalidad de la solución de NaOH (Equivalentes/L)
 M : peso molecular del ácido cítrico (g/mol),
 V_2 : volumen de la alícuota tomada para el análisis (cm^3)

2.16 Determinación de pH

Se utilizó un pH-metro con electrodo de vidrio. La calibración del pH-metro se realizó con una solución buffer de pH 7. Se preparó una dilución de la muestra (1:1) con agua destilada y se realizaron las determinaciones.

2.17 Determinación del % de humedad

Para la pulpa y jugo se procedió a pesar las cápsulas de porcelana vacías, luego se pesaron 5 g de muestra, se tomó el peso de la cápsula más la muestra y se procedió a colocarlas en la estufa. Después de 24 h se sacó las muestras de la estufa y se dejó enfriar por 15 min en el desecador. Finalmente se tomó el nuevo peso con la muestra seca. Para determinar el porcentaje de humedad se utilizó la Ecuación 10:

$$\%H = \frac{W_{cap+muestra} - W_{cap+m.seca}}{W_{cap+muestra} - W_{cap.vacia}} \times 100 \quad \text{Ecuación 10}$$

Donde:

$\%H$: humedad (% en peso fresco)
 $W_{cap+muestra}$: peso de la cápsula + muestra (g)
 $W_{cap+m.seca}$: peso de la cápsula + muestra seca (g)
 $W_{cap.vacia}$: peso de la cápsula vacía (g)

2.18 Determinación del % de sólidos totales

Se determinó en base al porcentaje de humedad, mediante la Ecuación 11:

$$\%ST = 100 - \%H \quad \text{Ecuación 11}$$

Donde:

$\%ST$: porcentaje de sólidos totales
 $\%H$: porcentaje de humedad

2.19 Determinación de sólidos solubles

Se colocaron muestras de pulpa y jugo en el brixómetro, obteniéndose valores (°Brix) dependientes de la cantidad de azúcares que contengan las muestras.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se observa en la Tabla 1, los valores promedio de las propiedades físicas y químicas de la mandarina son casi similares, según su zona de cultivo (Patate y Baños) y su grado de maduración (verde, pintón y maduro). La mandarina proveniente del Cantón Baños, sector Ulba, presenta valores superiores en las propiedades como tamaño, peso y volumen, tienen una forma similar, siendo ésta esférica y poco aplanada en los polos; mientras que la mandarina de Patate es más pequeña y aplanada que la mandarina proveniente de Baños; la densidad y gravedad específica son superiores para la mandarina de Patate; no obstante, para las propiedades como porcentaje de cáscara, porcentaje de semilla y porcentaje de pulpa los valores varían y no se pudo definir cuál mandarina presenta mayores valores.

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas de la mandarina entera

Características físicas y químicas	Promedios desviación estándar		
	Grado de maduración		
	Verde	Pintón	Maduro
Tamaño [m]	*4,5E-02±3,326 E-03 **5,4 E-02±2,990 E-03	4,6 E-02±2,912 E-03 4,7 E-02±3,803 E-03	4,7 E-02±5,274 E-03 5,0 E-02±4,357 E-03
Peso [kg]	*5,7 E-02±1,2487 E-02 **9,7 E-02±1,5818 E-02	6,9 E-02±1,1975 E-02 7,1 E-02±1,5268 E-02	6,7 E-02±1,7656 E-02 9,8 E-02±1,2342 E-02
Volumen [m ³]	*5,7 E-05±1,2 E-05 **9,6 E-05±1,6 E-05	6,8 E-05±1,2 E-05 7,0 E-05±1,5 E-05	6,6 E-05±1,7 E-05 9,6 E-05±1,2 E-05
Densidad [kg/m ³]	*1007±2,3 **1004±1,2	1012±1,9 1011±2,4	1019±3,1 1016±1,2
Gravedad Específica	*0,961±0,007 **0,938±0,004	0,950±0,009 0,966±0,016	0,945±0,005 0,935±0,004
Porcentaje de cáscara	*20,4±2,7 **21,4±3,3	19,0±2,8 18,9±2,9	31,7±4,3 22,6±3,7
Porcentaje de semilla	*2,2±0,8 **2,0±0,6	2,2±0,6 2,0±0,6	1,3±0,6 1,2±0,5
Porcentaje de pulpa	*77,4±2,7 **67,7±3,2	78,8±2,9 79,1±3,1	67,0±4,3 76,2±3,8

Como se observa en la Tabla 2, para la pulpa, los valores de humedad más altos se obtuvieron en el grado de maduración verde, lo que no ocurrió con el porcentaje de sólidos totales, pues en este grado de maduración se obtuvieron los valores más bajos; la mandarina de Baños presentó valores de acidez superiores a la mandarina de Patate, sin embargo esta última obtuvo mejores valores de pH, sólidos solubles e índice de refracción; la difusividad térmica varía según su grado de maduración y zona de cultivo.

Tabla 2. Propiedades físicas y químicas de la pulpa de mandarina

Características físicas y químicas	Promedios desviación estándar		
	Grado de maduración		
	Verde	Pintón	Maduro
Humedad [%]	*87±1,2 **91±0,8	86±0,6 89±0,6	84±1,0 88±0,9
Sólidos totales [%]	*13±1,2 **9±0,8	14±0,6 11±0,6	16±1,0 12±0,9
Acidez [g ácido cítrico en 1000cc de producto]	*19±0,7 **22±1,0	16±0,7 20±1,1	15±0,4 16±0,7
pH	*1007±2,3 **1004±1,2	1012±1,9 1011±2,4	1019±3,1 1016±1,2
Sólidos solubles [°Brix]	*10±0,1 **9±0,2	12±0,2 10±0,2	15±0,1 11±0,2
Índice de refracción	*1,3464±0,0010 **1,3412±0,0006	1,3485±0,0005 1,3428±0,0010	1,3521±0,0015 1,3467±0,0009
Difusividad térmica [m ² /s]* 10 ⁻⁷	*1,26±0,05 **1,30±0,03	1,40±0,07 1,41±0,05	1,59±0,06 1,61±0,06

En la Tabla 3 se presentan los datos obtenidos en el jugo de la mandarina, en la que se observa que la mandarina de Baños presentó valores superiores de humedad y acidez, en cambio la mandarina de Patate obtuvo los valores más altos de sólidos totales, pH sólidos solubles e índice de refracción; la gravedad específica y la densidad disminuyen conforme aumenta los grados de maduración y la temperatura el calor específico disminuye conforme aumentan los sólidos solubles, la difusividad térmica se incrementa conforme aumentan los grados de maduración, la mandarina de Baños obtuvo valores superiores a la de Patate y la viscosidad disminuye conforme aumenta la temperatura.

Las propiedades como volumen y peso presentan una buena relación, tanto para la mandarina proveniente de Patate como de Baños en los tres grados de maduración (verde, pintón y maduro), los coeficientes que se obtuvieron fueron altos entre 0,9999 y 1, es decir una relación perfecta y directa (Figuras 1 y 2).

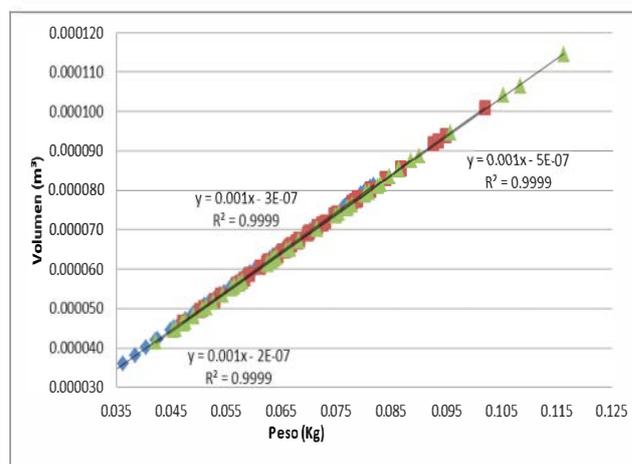


Figura 1. Relación entre volumen (m³) y peso (kg) de la mandarina de Patate en los grados de maduración verde (rombos) pintón (cuadrados) y maduro (triángulos).

REFERENCIAS

Batchelor L. D., y Webber H. J. (1948). The citrus industry. Vol. II: The production of the crop. Berkeley, California (USA): University of California Press.

Belitz H. D., y Grosch W. (1997). Química de los Alimentos. Zaragoza (España): Ed. Acribia S.A.

Cecchini T., y Cascante, M. C. (1995). Prepare usted misma Conservas de Frutas y Verduras. Barcelona (España): Editorial de Vecchi, S.A.

Cheftel J C., Cheftel H., y Besançon P. (1992). Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos (4ª Edición ed.). Zaragoza (España): Ed. Acribia S.A.

Fernández N. (2014). Reconocimiento de la madurez. Retrieved 06/11/2014, from http://www.infogranja.com.ar/reconocimiento_de_la_madurez.htm

Infoagro. (2014). El cultivo de las mandarinas. Retrieved 06/11/2014, from <http://www.infoagro.com/citricos/mandarina.htm>

Wikipedia. (2014). Mandarina. Retrieved 06/11/2014, from <http://es.wikipedia.org/wiki/Mandarina>

VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS POR ESPECTOFOTOMETRÍA Y GRAVIMETRÍA Y SUS DETERMINACIONES EN MATRICES DE AGUA CLARA Y RESIDUAL EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y CONTROL AMBIENTAL "CICAM"

VALIDATION OF ANALYTICAL METHODS FOR SPECTROPHOTOMETRIC AND GRAVIMETRIC DETERMINATION IN A MATRIX OF RESIDUAL AND CLEAR WATER IN THE ENVIRONMENTAL RESEARCH AND CONTROL CENTER "CICAM"

J. Jácome¹ y M. Calle²

¹Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Av. Los Chasquis y Río Payamino, Ambato (Ecuador)

²Centro de Investigación y Control Ambiental "CICAM", Facultad de Ingeniería Civil y Ambiental, Escuela Politécnica Nacional; Ladrón de Guevara E11-253, Quito (Ecuador).

Artículo recibido: 15/05/14

Artículo aceptado: 13/11/14

RESUMEN

Es importante realizar la validación de los métodos que se efectúan en los laboratorios de ensayo o calibración para poder conocer las limitaciones y aplicabilidad de los protocolos empleados, ya sean estos normalizados o no, con el fin de adaptar los procedimientos al entorno y actividades desempeñadas en la rutina de análisis. Se validó el método de análisis de Demanda Química de Oxígeno (DQO) en sus tres rangos de trabajo, rango bajo (LR) el cual tiene límites de trabajo desde 9 mg/L hasta 150 mg/L de O₂, con una incertidumbre de 29% y coeficientes de repetibilidad y reproducibilidad menores al 15 %. El rango medio (MR) desde 100 mg/L hasta 1500 mg/L de O₂ con una incertidumbre de 9 % y coeficientes de variación por repetibilidad y reproducibilidad menor al 5 %. El rango alto (HR) cuyo nivel de trabajo es desde 1000 mg/L hasta 15000 mg/L de O₂ con una incertidumbre expandida de 5,76 % y coeficientes de variación por repetibilidad y reproducibilidad también menores al 5 %. Los resultados de la validación del método de Sólidos Totales Disueltos fueron: rango de 30 mg/L hasta 1000 mg/L de STD con una incertidumbre expandida de 1,56 % y coeficientes de repetibilidad y reproducibilidad de 3,5 % y 3,18 %. Para el método de Sólidos Totales Suspendidos el rango de trabajo validado fue de 5 mg/L hasta 150 mg/L de STS con una incertidumbre expandida de 2,73 % y coeficientes igual a CV_r= 5,88 % y CV_R= 5,69 %.

Palabras clave: acreditación, química analítica, cuantitativa.

ABSTRACT

It is important to accomplish the validation of the methods that are performed in test or calibration laboratories to recognize the limitations and applicability of the protocols used, whether they are standardized or not. In order to adapt procedures to the environment and activities performed in analysis routine. Chemical Oxygen Demand (COD) was validated in its three work ranges, low rank (LR) which has work limits from 9 mg/L to 150 mg/L O₂, with an uncertainty of 29 % and repeatability and reproducibility coefficients lower than 15 %. Medium rank (MR) starting from 100 mg/L to 1500 mg/L O₂ with an uncertainty of 9 % and repeatability and reproducibility coefficients lower than 5 %. Finally, High rank which work level is from 1000 mg/L to 15000 mg/L O₂ with an expanded uncertainty of 5,76 % and variation repeatability and reproducibility coefficients lower than 5 %. The validation results of the Total Dissolved Solids method were, rank of 30 mg/L to 1000 mg/L (TDS) with an expanded uncertainty of 1,56 % and repeatability and reproducibility coefficients of 3,5 % and 3,18 %. For Total Suspended Solids method (TSS) the rank of standardized method was 5 mg/L to 150 mg/L TSS with an expanded uncertainty of 2,73 % equals to CV_r= 5,88 % and CV_R= 5,69 %.

Key words: accreditation, analytical chemistry, quantitative.

1. INTRODUCCIÓN

Los estudios de validación de métodos se basan en la determinación del rendimiento de los parámetros en el método general. Estos se obtienen durante el desarrollo del método y estudios interlaboratorio o siguiendo los protocolos de validación propios. Diferentes fuentes de error o incertidumbre son típicamente investigadas solo cuando se compara significativamente a todas las mediciones de precisión en uso.

El Centro de Investigación y Control Ambiental "CICAM" de la Escuela Politécnica Nacional, mantiene un creciente compromiso con la sociedad y la industria al ofrecer servicios de control de calidad ambiental, en parámetros de agua, suelos, emisiones gaseosas y estudios de ruido complementada con asistencia técnica ambiental.

Para desarrollar dichas actividades se requieren métodos fiables que cumplan con las normativas nacionales e internacionales en todas las áreas de análisis. Convirtiéndose así, la validación de métodos en un componente esencial de las medidas que un laboratorio debe implementar para producir datos analíticos fiables. La realización de estas actividades de validación de los métodos de ensayo utilizados por el propio laboratorio, contemplan la satisfacción de las necesidades del cliente y la adecuación para realizar los ensayos previstos (OIV, 2005). Para manejar un sistema de aseguramiento de la calidad de un laboratorio ambiental, se debe tener en cuenta muchos componentes como la elaboración de los protocolos analíticos e implementación de las metodologías para medición de los parámetros, la validación de las metodologías analíticas aplicadas a la evaluación de la calidad ambiental de acuerdo con las recomendaciones de las agencias nacionales e internacionales, y la vigencia de muestras ambientales, incluyendo también la elaboración de toda la documentación relacionada (manual de funcionamiento de instrumentación y equipos, protocolos de calibración y análisis, instructivos, manuales, formatos) (Macas A. J., 2011). La demanda química de oxígeno se utiliza como una medida del equivalente de oxígeno del contenido de materia orgánica de una muestra susceptible de oxidación por un oxidante químico fuerte. Para las muestras de una fuente específica, la DQO puede relacionarse empíricamente con la demanda biológica de oxígeno, el carbono orgánico o la materia orgánica (Clesceri L. S. et al., 1998). Los sólidos totales disueltos son una medida de la materia en una muestra de agua, más pequeña de 2 micrómetros y no puede ser removido por un filtro tradicional.

Los sólidos disueltos son la suma de todos los minerales, metales y sales disueltas en el agua y es un buen indicador de la calidad del agua. Una concentración elevada de sólidos disueltos proporciona al agua una apariencia turbia y disminuye el sabor de la misma.

Personas no acostumbradas al agua con alto contenido de sólidos disueltos pueden experimentar irritación gastrointestinal al beberla, puede interferir con los equipos de tratamiento. Su remoción puede lograrse con destilación u ósmosis inversa (Sigler W. A. y Bauder J., 2012). Los sólidos suspendidos o residuo filtrable de una muestra de agua natural o residual industrial o doméstica, se definen como la porción de sólidos retenidos por un filtro de fibra de vidrio que posteriormente se seca hasta peso constante, las partículas en suspensión son mayores a 1.2 μm de diámetro (Clesceri L. S., et al., 1998).

2. METODOLOGÍA Y MATERIALES

Para la realización de las curvas de calibración de los métodos espectrofotométricos, como la demanda química de oxígeno se trabajó con 5 puntos de concentración de acuerdo al ordenamiento planteado en la Tabla 1, con lo cual se procedió a realizar los respectivos cálculos de estimación lineal de la curva de calibración.

Tabla 1. Modelo de estudio y registro de datos experimentales para el análisis de varianza a cada concentración

MUESTRA	CONCENTRACIÓN (mg/L)		
	Días		
	D1	D2	D3
R1	RE 1-1	RE 2-1	RE 3-1
R2	RE 1-2	RE 2-2	RE 3-2
R3	RE 1-3	RE 2-3	RE 3-3
R4	RE 1-4	RE 2-4	RE 3-4
R5	RE 1-5	RE 2-5	RE 3-5

Se establecieron cinco niveles de concentración en cada rango de validación, en el caso de la demanda química de oxígeno DQO, (rango bajo, rango medio, rango alto), siete niveles de concentración para la validación de los sólidos totales suspendidos y ocho niveles de concentración para la validación de los sólidos totales disueltos. En cada nivel poblacional o de concentración se aplicaron cinco réplicas cada 48 horas durante 3 días establecido de acuerdo al diseño experimental escogido para la validación el cual es un diseño completamente al azar (DCA) con el siguiente ordenamiento:

Los cálculos de incertidumbre se desarrollaron aplicando las siguientes fórmulas para la estimación de la incertidumbre por preparación de soluciones:

$$\mu_{MR} = C_{MR} \times \sqrt{\left(\frac{\mu_{MRC}}{\%Pureza_{MRC}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{Balón}}{Vol.Aforo}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{Balanza}}{Pesado}\right)^2}$$

Ecuación 1

Donde:

C_{MR} : Concentración del Estándar Preparado.

μ_{MRC} : Incertidumbre del Material de Referencia Certificado.

%Pureza_{MRC}: Porcentaje de Pureza del Material de Referencia Certificado.

$\mu_{Balón}$: Incertidumbre del Balón de Aforo.

Vol.Aforo: Volumen final de aforo.

$\mu_{Balanza}$: Incertidumbre de la Balanza.

Pesado: Peso utilizado para la preparación de la solución estándar.

2.1 Incertidumbre por resolución del equipo

$$\mu_{Res} = \frac{\text{Resolución del Equipo}}{\sqrt{3}} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

La resolución la especifica el fabricante del equipo en el manual del usuario.

2.2 Incertidumbre del error tipo

$$\mu_{ErrorTipo} = \frac{\text{ErrorTipo}(S_{xy})}{\sqrt{N}} \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde:

N: Número de datos utilizados en la estimación lineal.

2.3 Incertidumbre por función de respuesta

$$\mu_{FR} = \sqrt{\mu_{MR}^2 + \mu_{Res}^2 + \mu_{ErrorTipo}^2} \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde:

μ_{MR} : Incertidumbre por preparación de estándares.

μ_{Res} : Incertidumbre por resolución del equipo.

$\mu_{ErrorTipo}$: Incertidumbre por Error Tipo (S_{xy}).

2.4 Incertidumbre por repetibilidad

$$\mu_{rMR} = \frac{Sr}{\sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde:

Sr: Desviación estándar por repetibilidad.

n: Número de observaciones totales por concentración utilizados en el cálculo de ANOVA.

2.5 Cálculo de incertidumbre por calibración del método

$$\mu_{cal Met} = \sqrt{\mu_{FR}^2 + \mu_{rMR}^2} \quad \text{Ecuación 6}$$

Donde:

μ_{FR} : Incertidumbre de la función de respuesta

μ_{rMR} : Incertidumbre de tipo A o de repetibilidad

2.6 Incertidumbre por reproducibilidad

$$\mu_{RMR} = S_R \quad \text{Ecuación 7}$$

Donde:

SR: Desviación estándar por Reproducibilidad.

2.7 Incertidumbre estándar del método

$$\mu_m = \sqrt{\mu_{FR}^2 + \mu_{RMR}^2} \quad \text{Ecuación 8}$$

Donde:

μ_{FR} : Incertidumbre por Linealidad.

μ_{RMR} : Incertidumbre por Reproducibilidad.

2.8 Incertidumbre expandida del método

$$U_m = \mu_m \times K \quad \text{Ecuación 9}$$

Donde:

μ_m : Incertidumbre Estándar del Método.

K: 2

3. RESULTADOS

Para realizar el análisis de los resultados se procedió a ejecutar los protocolos establecidos para la obtención de datos experimentales de cada uno de los parámetros a validar y se establecen hipótesis basadas en la metodología del análisis de los analitos de interés las cuales se ponen a comprobación con los respectivos cálculos estadísticos.

3.1 Demanda química de oxígeno

3.1.1 Rango bajo (LR)

Se realizaron 3 curvas en días distintos con el fin de abarcar los posibles errores aleatorios o sistemáticos que pueda haber en el proceso. El coeficiente de determinación R^2 es de 0,9942 con el cual podemos tener una certeza de que los datos mantienen una tendencia uniforme, los límites superiores e inferiores de la recta de calibrado determinan la zona de confianza de medición los resultados que están dentro de la zona incluyen incertidumbre, precisión y exactitud, los límites de confianza se encuentran en la Tabla 2.

Tabla 2. Límites superior e inferior del rango inferior (LR).

Concentración (mg/L)	Límite Superior	Límite Inferior
5	0,0067	-0,0011
40	0,0213	0,0136
80	0,0381	0,0303
120	0,0548	0,0471
150	0,0674	0,0597

El análisis de varianza demuestra que no existen diferencias significativas en ninguna de las concentraciones. Se determinó los coeficientes de variación de repetibilidad (% CVr) y reproducibilidad (% CVR) tomando el máximo de entre todas las concentraciones, de esta forma tenemos 13,70 % CVr y 12,58 % CVR. Con los datos del porcentaje de coeficiente de variación por reproducibilidad se obtuvo la expresión de Horwitz el cual sirve como un parámetro importante para obtener la incertidumbre de medida, dicha expresión se encuentra en la Figura 1.

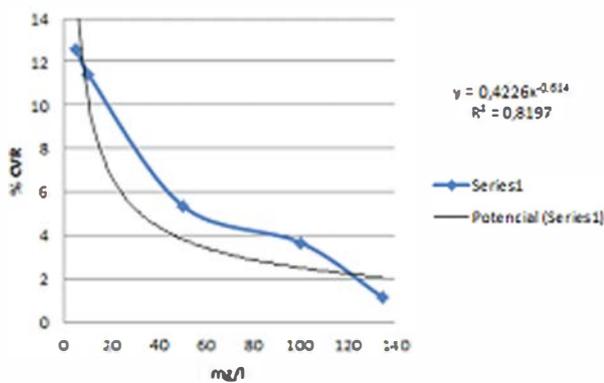


Figura 1. Curva de Horwitz, rango bajo (LR).

Se obtuvo una incertidumbre estándar expandida (U_m) máxima de 29,23 % a la concentración de 5 mg/L O_2 , y la mínima incertidumbre de 2,31 % correspondiente a 135 mg/L. Se tomó el valor más grande de incertidumbre el cual se reportó en la declaración del método validado.

3.1.2 Rango Medio (MR)

De acuerdo a los resultados de las curvas de calibración se obtuvo un coeficiente de determinación $R^2 = 0,9999$. El límite de detección es de 5 mg/L y el límite de cuantificación de 10 mg/L, los límites se encuentran en la Tabla 3.

Tabla 3. Límites superior e inferior del rango medio (MR).

Concentración (mg/L)	Límite Superior	Límite Inferior
100	0,0515	0,0426
400	0,1855	0,1766
700	0,3196	0,3107
1000	0,4536	0,4447
1500	0,6770	0,6682

En el análisis de varianza a 1500 mg/L se obtuvo un valor F calculado de 5,2 el cual comparado con su respectivo valor de tablas (5,2 > 3,9) resultó en un contraste de hipótesis negativo. Los porcentajes de coeficiente de variación por repetibilidad y reproducibilidad fueron de 0,42 % y 0,67 % respectivamente. La curva de Horwitz y su ecuación se encuentra en la Figura 2.

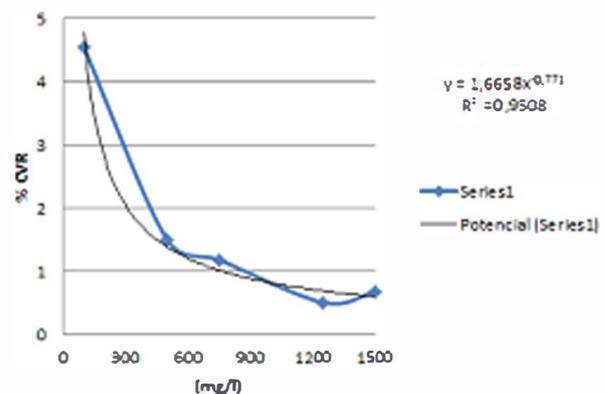


Figura 2. Curva de Horwitz, rango medio (MR).

3.1.3 Rango Alto (HR)

Los estadísticos obtenidos reflejan una uniformidad satisfactoria en la relación de la concentración y la función de respuesta del equipo, con un coeficiente de determinación de 0,9992.

El límite de detección es de 163 mg/L y el límite de cuantificación de 339 mg/L, los límites superior e inferior de la curva de calibración se encuentra en la Tabla 5.

No existieron diferencias significativas en todos los puntos de concentración, por tanto se acepta la hipótesis nula. Los coeficientes de variación por repetibilidad (% CVr) y por reproducibilidad (% CVR) que se obtuvieron resultado del análisis de ANOVA son los siguientes valores: %CVr= 2,76; %CVR= 2,99. La ecuación de Horwitz obtenida con los coeficientes de variación por reproducibilidad de todas las concentraciones se encuentran también en la Figura 3.

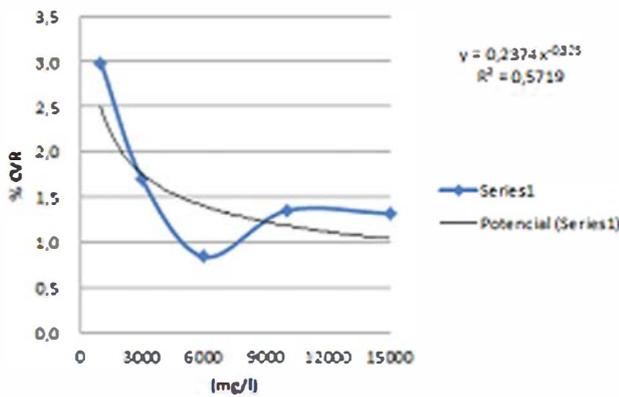


Figura 3. Curva de Horwitz, rango alto (HR).

3.1.4 Sólidos Totales Disueltos

No existieron diferencias significativas entre las varianzas de los grupos muestrales. Los coeficientes de variación por repetibilidad y reproducibilidad se determinaron en base a los resultados del análisis de varianza, los factores que influyen en el método de análisis son de control del analista o la persona encargada de realizar la validación, por lo tanto es posible reducir la variación producida por los mismos lo cual influye directamente en el resultado del análisis, esto lo comprobamos con el porcentaje de variación por repetibilidad, CVr= 3,5 % y con la variación por reproducibilidad, CVR= 3,18 %.

Se obtuvo la ecuación de Horwitz con el fin de lograr estimar una proyección de la incertidumbre de las mediciones que realicen con este método, se encuentra en la Figura 4.

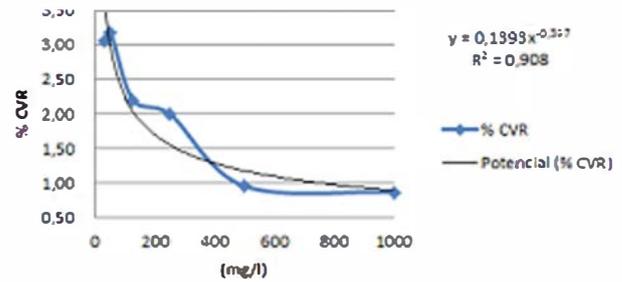


Figura 4. Curva de Horwitz, sólidos totales disueltos

La incertidumbre estándar expandida del método es de 1,56 % (0,78 mg/L) correspondiente a la concentración de 50 mg/L, siendo este el valor máximo obtenido en el rango, mientras que el valor mínimo de incertidumbre es de 0,45 % a la concentración de 1000 mg/L.

3.1.5 Sólidos Totales Suspendedos

El rango de concentración analizado fue desde 5 mg/L hasta 150 mg/L, en ninguno de los puntos intermedios hubo diferencias significativas con respecto a las varianzas de los grupos muestrales. La variación por repetibilidad es igual a 5,88 % mientras que la variación por reproducibilidad es de 5,69 %.

La incertidumbre estándar expandida más alta obtenida corresponde a la de 5 mg/L que es igual a 2,73 % (0,14 mg/L), mientras que la menor es de 0,91 %. La ecuación de Horwitz obtenida con el fin de lograr estimar una proyección de la incertidumbre de las mediciones que realicen con este método, se encuentra en la Figura 5.

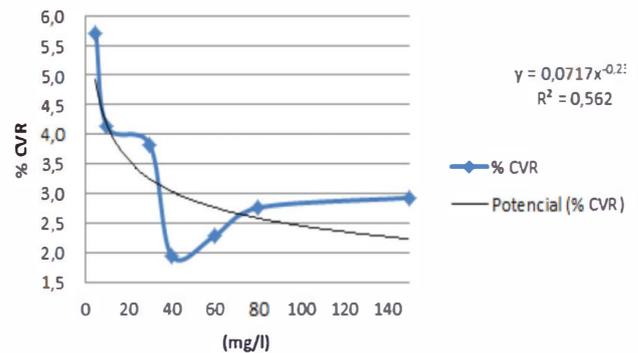


Figura 5. Curva de Horwitz, sólidos totales suspendedos

4. CONCLUSIONES

Se elaboraron matrices de validación para cada parámetro con el fin de demostrar los alcances y limitaciones que tiene cada método de análisis abarcando el rango de necesidades que tiene el "CICAM". Los límites de detección y cuantificación

para el método de demanda química de oxígeno son 4 mg/L y 9 mg/L; 5 y 10 mg/L; 163 y 339 mg/L respectivamente, aplicable para aguas claras y residuales, porcentaje de variación por repetibilidad igual a 13,7 % en LR; 4,21 % en MR; 2,76 % en HR, el porcentaje de variación por reproducibilidad CVR= 12,58 %; 4,53 %; 2,99 % respectivamente y la incertidumbre estándar expandida igual al 29,23 % en rango bajo; 9,09 % en rango medio y 5,76 % en rango alto. Por lo tanto el rango total validado en cada caso es de 5 a 150 mg/L en LR; de 100 a 1500 mg/L en MR y de 1000 a 15000 mg/L en HR. El método de sólidos totales suspendidos tiene porcentajes de variación por repetibilidad igual a 5,88 % y por reproducibilidad igual a 5,7 % con una incertidumbre estándar expandida igual a 2,73 %, el rango de trabajo validado es de 5 mg/L a 150 mg/L.

La validación del método de sólidos totales disueltos tiene como resultados coeficientes de variación por repetibilidad igual a 3,5 % y coeficiente de variación por reproducibilidad igual a 3,2 % con una incertidumbre estándar expandida igual a 1,56 %, el rango de trabajo validado es de 30 mg/L a 1000 mg/L.

De acuerdo a la incertidumbre expandida obtenida para el caso de 100 mg/L en los rangos bajo (LR) y medio (MR) de la demanda química de oxígeno, es recomendable realizar las lecturas desde los 100 mg/L hasta 150 mg/L en el rango bajo debido a la baja incertidumbre que esta posee a dichas concentraciones, si se ha realizado la lectura en rango medio (MR), repetir la medición en LR.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó gracias a la colaboración de la Escuela Politécnica Nacional y el Centro de Investigaciones y Control Ambiental CICAM

REFERENCIAS

Clesceri L. S., Greenberg A. E., y Eaton A. D. (1998). Standard methods for the examination of water and wastewater (20th ed ed.). Washington DC (USA): American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Environment Federation (WEF).

Macas A. J. (2011). Validación de métodos analíticos para la determinación de cloro libre residual, cromo hexavalente, cromo total y nitritos en muestras de agua, en el Centro de Investigaciones y Control Ambiental "CICAM". BSc Thesis, Universidad Técnica de Ambato, Ambato (Ecuador).

OIV. (2005). Recomendaciones armonizadas para la validación de métodos de análisis en un sólo laboratorio (Informe Técnico) (Vol. OENO 8/2005,, pp. 32): Organización Internacional de la Viña y el Vino.

Sigler W. A., y Bauder J. (2012). Alcalinidad, pH y Sólidos Disueltos Totales Well Educated. Educación en el Agua de Pozo (pp. 1): Universidad Estatal de Montana.

VALIDACIÓN DE UN MÉTODO PARA ANÁLISIS DE ARSÉNICO EN AGUA POTABLE POR ABSORCIÓN ATÓMICA MEDIANTE GENERACIÓN DE HIDRUROS

ANALYSIS METHOD VALIDATION FOR ARSENIC CONTENT IN DRINK WATER BY ATOMIC ABSORPTION HYDRIDE GENERATION

C. Tafur, M. T. Pacheco*

Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.
Campus Académico Huachi: Av. Los Chasquis y Río Payamino, Ambato (Ecuador)

Artículo recibido: 19/08/14

Artículo aceptado: 14/11/14

RESUMEN

Se validó un método para determinación de arsénico en agua potable por la metodología de absorción atómica con generadores de hidruros marca GBC Savant (fabricado en Australia). Se aplicó un diseño experimental no probabilístico, empleando la muestra de referencia CRM de la empresa ERA con 9,78 ppb de concentración certificada y el protocolo señalado por el fabricante del equipo. Se determinó los parámetros de validación obteniendo resultados estadísticos favorables de linealidad con un coeficiente de correlación de 0,9997, un error en la calibración de 0,00247 e incertidumbre de calibración de 0,35. El límite de detección fue 4,49 ppb, el límite de cuantificación de 5,244 ppb, el coeficiente de variación de repetibilidad 2,65 % y el coeficiente de variación de reproducibilidad 2,69 %; la exactitud se determinó con la muestra de referencia (MCR), con una prueba de t de Student de dos colas se concluyó que no existe una diferencia significativa entre la lectura en el equipo y la concentración certificada por el MCR. Con la determinación de la incertidumbre se puede concluir que el método está validado con una incertidumbre expandida de $\pm 18,63$ %. El análisis de varianza basado en la prueba ANOVA de Fisher demostró que todos los datos están dentro del límite de aceptación.

Palabras claves: coeficiente de correlación y determinación, ANOVA, linealidad, exactitud, incertidumbre, MCR.

ABSTRACT

A method for determination of arsenic in drinking water by the method of atomic absorption hydride generators Savant GBC brand (made in Australia) was validated. A non- experimental design was used probabilistic, using the reference sample CRM company ERA to 9.78 ppb certified concentration and the protocol indicated by the manufacturer. Validation parameters were determined by obtaining favorable statistical results of linearity with a correlation coefficient of 0.9997, an error in the calibration of 0.00247, 0.35 calibration uncertainty, expanded uncertainty of 18.63 %. The results of limit of detection is 4.49 ppb, the limit of quantitation of 5.244 ppb, percentage of average variation coefficient is 2.65 % repeatability, the percent coefficient of variation is 2.69 reproducibility %, the accuracy was determined with the reference sample (MCR) with bias and t test two-tailed Student was concluded that there is no significant difference between the reading on the computer and certified by the MCR concentration. Determining with uncertainty can conclude that the method is validated using an expanded uncertainty of ± 18.63 %. Analysis of variance based on the ANOVA test showed Fisher that all the data are within the acceptance limit.

Keywords: coefficient of determination and correlation, ANOVA, linearity, accuracy, uncertainty, MCR.

1. INTRODUCCIÓN

El arsénico es un elemento ampliamente distribuido en la atmósfera, hidrósfera y biósfera. Si bien una gran cantidad de As en el medio ambiente proviene de fuentes naturales (meteorización, actividad biológica, emisiones volcánicas), existe una importante contribución por parte de procesos industriales (minería, fundición de metales, pesticidas, conservantes de la madera, etc.) (Akter K. F., et al., 2005). El elemento puede estar presente en distintos estados de oxidación (-III, 0, III, V) y en formas inorgánicas y orgánicas, en un amplio rango de concentraciones en aire, agua, suelos, vegetales y animales (Kumaresan M. y Riyazuddin P., 2001).

Las principales rutas de exposición de las personas al arsénico son la ingesta e inhalación. Este elemento es acumulable en el organismo por exposición crónica, y a ciertas concentraciones ocasiona afecciones como: alteraciones de la piel (relajamiento de los capilares cutáneos y la dilatación de los mismos) con efectos secundarios en el sistema nervioso, irritación de los órganos del aparato respiratorio, gastrointestinal, y hematopoyético y acumulación en los huesos, músculos y piel, y en menor grado en hígado y riñones. La evidencia epidemiológica de personas con ingestión prolongada de arsénico inorgánico, vía agua de bebida, es la hiperqueratosis palmo-plantar, cuya manifestación principal es la pigmentación de la piel y callosidades localizadas en las palmas de las manos y pies (Lillo J., 2003).

Resultados con animales de laboratorio indican que el arsénico inorgánico trivalente es más tóxico que el pentavalente debido a que los compuestos pentavalentes tienen menor efecto en actividades enzimáticas, pero "in vivo" éstos pueden reducirse a compuestos trivalentes. La toxicidad del arsénico depende del estado de oxidación, estructura química y solubilidad en el medio biológico. La escala de toxicidad del arsénico decrece en el siguiente orden: arsina > As⁺³ inorgánico > As⁺³ orgánico > As⁺⁵ inorgánico > As⁺⁵ orgánico > compuestos arsenicales y arsénico elemental (Benítez M. E., et al., 2000).

En el agua de bebida, por lo general, el arsénico se encuentra en la forma de arsenato y puede ser absorbido con facilidad en el tracto gastrointestinal en una proporción entre 40 % y 100 % (Castro M. L., 2006). El arsénico inorgánico ingerido pasa al torrente sanguíneo, donde se enlaza a la hemoglobina y en 24 horas puede encontrarse en el hígado, riñones, pulmones, bazo y piel. Los órganos de mayor almacenamiento son la piel, el hueso y el músculo. Su acumulación en la piel tiene relación con su fácil reacción con los grupos sulfhidrilo de las proteínas (Finkelman J., et al., 1994).

En Ecuador se ha realizado estudios a lo largo de varios ríos y acuíferos que muestran la presencia de arsénico en sus aguas. Dentro del proyecto "Origen del Arsénico en las Aguas y Sedimentos de la Laguna de Papallacta" el estudio preliminar indicó que en la laguna de Papallacta se encuentran concentraciones de Arsénico entre 390 y 10560 µg/L. En los ríos que desembocan en la laguna de Papallacta, como por ejemplo el río Sucus, se encuentran concentraciones de hasta 25 µg/L mientras que en el río Tambo se encontraron concentraciones de hasta 149 µg/L en la cuenca baja y en la cuenca alta, concentraciones de hasta 698 µg/L (Cumbal L., et al., 2006).

La norma técnica del Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización INEN sobre la calidad del agua de bebida, señala un máximo de 0,01 mg/L (INEN, 2011). Según el informe de Monitoreo Espacial de Arsénico de las Fuentes Rurales del Distrito Sur y Centro Oriental (EMAAP-Q, 2005) se detectaron concentraciones mayores a 50 µg/L en fuentes de agua subterránea y geotermal de los Valles de Tumbaco y Guayllabamba. Las condiciones geográficas del valle de los Chillos son similares a estos valles, pero no se dispone de ninguna información referente a la contaminación con Arsénico.

La provincia de Imbabura presenta suelos formados en el cuaternario a partir de erupciones de los volcanes circundantes (Imbabura, Cotacachi, etc.). Estas condiciones hacen que exista la posibilidad de que en sus fuentes de agua se encuentre presente arsénico, pudiendo representar un peligro latente para la población a la cual se provee de este servicio. La cantidad de arsénico encontrada en la laguna Papallacta supera ampliamente lo permitido por las normas nacionales e internacionales para fuentes de agua de uso doméstico.

La validación de un método analítico es un paso fundamental para asegurar que los resultados entregados por dicho método son confiables. Cuando se realiza la validación de un método por parte del laboratorio, lo que se busca es poder determinar con fundamento estadístico que el método es adecuado para los fines previstos (Aguirre L., et al., 2001). Los principales parámetros a considerar en una validación son: selectividad, linealidad, sensibilidad, límites, precisión, veracidad, robustez y aplicabilidad (Aguirre L., et al., 2001).

El objetivo de este trabajo fue validar un método para detección de arsénico en agua potable, empleando un método de generación de hidruros en la Empresa de Agua Potable de Quito - Ecuador EMAPQ que permita detectar con precisión residuos de arsénico en el agua tratada.

2. METODOLOGÍA Y MATERIALES

Se validó el método para determinar arsénico en el laboratorio de control de calidad de la EMAPA-I de la ciudad de Ibarra, provincia de Imbabura, para análisis de muestras de agua potable con proyección a aguas crudas y residuales. Se puso énfasis en cumplir la Norma 1108 del Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización que señala 0,01 ppm como límite máximo permisible para el agua de consumo humano (INEN, 2011).

La validación se inició desde la calibración del equipo alineando el haz de luz de la lámpara en la celda de cuarzo. El reactivo clave para la determinación fue el borohidruro de sodio al 6 % mezclado con NaOH al 6%, que permite la reducción de As⁺⁵ a As⁺³ para mejorar la detección. La reacción debe darse en un medio ácido por lo que se inyecta HCl 3 M al generador de hidruros. Es necesario revisar la presión de los gases acetileno que este la llama a unos 200 °C y el gas inerte argón que esté a unos 2 L/min; la longitud de onda a la que se mide es de 193,7 nm con una potencia en la lámpara de 8,0 mA. La preparación de los estándares se realizó a partir de un patrón puro de As disuelto en HNO₃ de concentración 1000 mg/L con 100% de pureza, realizando las respectivas diluciones desde 4 ppb hasta 60 ppb. El blanco es agua destilada. Se aplicó un diseño experimental no probabilístico, empleando la muestra de referencia CRM de la empresa ERA con 9,78 ppb de concentración certificada, se determinó el promedio y la desviación estándar de las lecturas del material de referencia con las cuales se procedió calcular t de Student para ver si existe o no diferencia significativa entre las concentraciones la leídas en el equipo y la dadas por el material de referencia. Seguidamente se halló el límite de detección, límite de cuantificación, la linealidad, repetibilidad, reproducibilidad, exactitud, incertidumbre y se aplicó un análisis de varianza. A continuación se reportan algunas relaciones empleadas.

Error de calibración:

$$s_y = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{N - 2}} \quad \text{Ecuación 1}$$

Incertidumbre de calibración

$$u_{co} = \frac{S_y}{b} * \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{\hat{n}} + \frac{(y_o - \bar{y})^2}{b^2 * S_{xx}}} \quad \text{Ecuación 2}$$

Región de confianza

$$\hat{x}_{estim} = \hat{x}_{estim} \pm \left(\frac{S_y * t}{b} * \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{\hat{n}} + \frac{(y_o - \bar{y})^2}{b^2 * S_{xx}}} \right) \quad \text{Ecuación 3}$$

Límite de detección: LD=XB+3SB

Límite de cuantificación: LC=XB+10SB

Donde,

n: número de réplicas,

N: número de niveles de concentración,

b: pendiente,

y: valores de la señal de equipo- valores de absorbancia experimental,

y: promedio de los valores de absorbancia experimentales.

Los cálculos estadísticos se realizaron en un libro del programa Microsoft Excel, con fórmulas y celdas que hacen que se corrijan automáticamente los resultados si se cambia uno o más valores.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron resultados de absorbancia en los diferentes días de experimentación. Se construyeron curvas de ajuste para reparar y calibrar el equipo hasta lograr que las curvas posean un coeficiente de determinación y correlación lo más cercano a 1. Se escogieron los datos de 6 curvas para realizar los cálculos estadísticos (Tabla 1).

Tabla 1. Mejores curvas en los diferentes días de experimentación

Concentración (µg/L)	Absorbancia (abs)					
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
0	0,0020	0,0010	0,0020	0,0030	0,0040	0,0020
4	0,0451	0,0454	0,0464	0,0466	0,0462	0,0475
6	0,0601	0,0600	0,0630	0,0610	0,0629	0,0603
8	0,0827	0,0750	0,0840	0,0806	0,0888	0,1103
10	0,1073	0,0920	0,0990	0,0994	0,1328	0,1211
20	0,1702	0,1790	0,1756	0,1749	0,1866	0,1951
30	0,2530	0,2560	0,2740	0,2610	0,2940	0,2635
40	0,3488	0,3090	0,3560	0,3379	0,3664	0,3522
50	0,4321	0,4050	0,4210	0,4194	0,4240	0,3977
60	0,5210	0,4800	0,4900	0,4970	0,4488	0,4565

La curva del día 4 (Figura 1) fue la mejor por su linealidad mostrando un coeficiente de determinación de 0,9994.

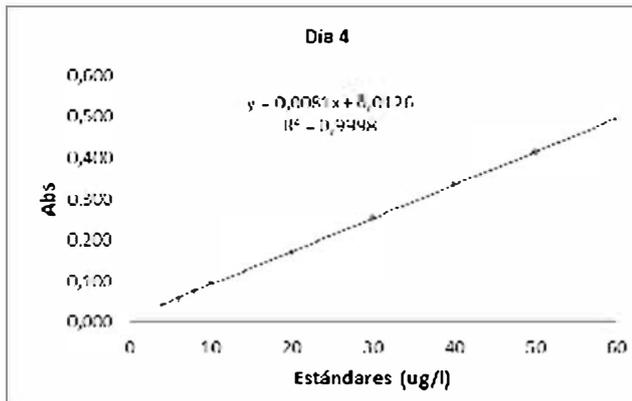


Figura 1. Absorbancia vs concentración: día 4

3.1 Límite de detección y cuantificación

Se determinaron los límites de detección y cuantificación a partir del estándar de menor concentración (4 ppb). El límite de detección de un analito es aquella concentración que proporciona una señal instrumental significativamente diferente de la señal de una muestra en blanco, o la concentración más baja. En este caso el límite de detección (LD) es de 4,490 ppb. El límite de cuantificación considerado como el límite de concentración más bajo para mediciones cuantitativamente precisas. Se define como la cantidad de analito que proporciona una señal igual a la del estándar (4 ppb) más diez veces la desviación estándar del estándar. En este caso el límite de cuantificación es de 5,244 ppb (Tabla 2).

Tabla 2. Datos de concentración más baja para la determinación del límite de detección y de cuantificación

Aforo (mL)	Muestra (µg/L)	Lectura (abs)	Resultado (µg/L)
100	4	0,0451	4,0292
100	4	0,0454	4,0664
100	4	0,0464	4,1905
100	4	0,0466	4,2194
100	4	0,0462	4,1657
100	4	0,048	4,3270
		X	4,166
		S	0,108
		LD	4,490
		LC	5,244

3.2 Linealidad

El criterio de aceptación cualitativo que se usa para determinar la linealidad es el coeficiente de correlación. El coeficiente de correlación de las curvas de los 5 días son cercanos a 1, pero se tomó como referencia para los cálculos la curva del día 4 (Tabla 3) con un coeficiente de correlación y determinación de 0,9997

y 0,9994 respectivamente. Los resultados de pendiente e intercepto son de 0,0081 y 0,0127 respectivamente.

Tabla 3. Resultados de pendiente, intercepto y R² de los 5 días

Día	M	B
1	0,008	0,009
2	0,008	0,012
3	0,008	0,015
4	0,008	0,013
5	0,008	0,029
Promedio	0,008	0,016
Des est	0,000	0,008
m máx	0,008	0,027
m mín	0,008	0,004

3.3 Repetibilidad y reproducibilidad

Para la determinación de la repetibilidad se tomaron datos mismo día con el mismo equipamiento, mismo laboratorio, mismos reactivos, mismo analista pero en diferentes intervalos de tiempo al transcurso del día. Se registró datos de la concentración más baja 4 ppb (Tabla 4), la concentración media (20 ppb) y la concentración alta (60 ppb) para determinar la desviación estándar, la media y el coeficiente de variación porcentual (% CV).

Con las desviaciones estándar se realiza una comparación del punto 1 (4 ppb) con el punto 2 (20 ppb), del punto 2 (20 ppb) con el punto 3 (60 ppb), y la última de los 3 puntos.

Se calculó la prueba F con los valores máximos y mínimos de las desviaciones de estándar de las comparaciones realizadas entre los puntos. Se acepta la hipótesis nula para la relación del punto 2 y punto 3 con un resultado de la prueba F calculado de 1,75 menor al F tabulado (n=5-1) de 6,388.

Para determinar la reproducibilidad, se trabajó con el mismo equipo, reactivos y mismo analista. En diferentes días se calculó la repetibilidad (Tabla 4) registrando datos de la concentración más baja (4 ppb), concentración media (20 ppb) y concentración alta (60 ppb) para determinar la desviación estándar (SRi), la media (x) y el porcentaje de coeficiente de variación (% CVRi).

Tabla 4. Datos de repetibilidad, reproducibilidad y coeficiente de variación

	X	S	S max	S min	%CVR	X	S	S max	S min	%CVRi
4ppb	4,059	0,121	0,308	0,121	2,98	4,134	0,082	0,756	0,082	1,99
20ppb	20,465	0,308	0,308	0,611	3,95	20,431	0,756	1,420	0,756	3,70
60ppb	60,106	0,611	0,308	0,121	1,02	59,907	1,420	1,420	0,082	2,37

Con las desviaciones estándar se realizó una comparación del punto 1 (4 ppb) con el punto 2 (20 ppb), del punto 2 (20 ppb) con el punto 3 (60 ppb), y la última de los 3

con un resultado de la prueba F calculado de 3,53 menor al F tabulado ($n=5-1$) de 6,388.

3.4 Determinación de la exactitud

Se utilizó una muestra de referencia de la empresa ERA certificada, para validar la curva de calibración comprobando que la lectura de absorbancia y concentración este cercano a lo certificado (9,78 $\mu\text{g/L}$). Los resultados se encuentran en la Tabla 5 con 5 lecturas del material de referencia su absorbancia y su concentración.

Tabla 5. Datos de la lectura del material de referencia

Aforo (mL)	Muestra ($\mu\text{g/L}$)	Lectura (abs)	Resultado ($\mu\text{g/L}$)
100	9,78	0,0916	9,80
100	9,78	0,0926	9,92
100	9,78	0,0931	9,99
100	9,78	0,0928	9,95
100	9,78	0,0936	10,05

Se realizó el cálculo del sesgo para determinar si había diferencia significativa entre las lecturas obtenidas y la concentración del material de referencia. También el porcentaje de recuperación (Tabla 6).

Tabla 6. Porcentaje de recuperación

Lectura	Resultado ($\mu\text{g/L}$)	MCR ($\mu\text{g/L}$)	Recuperación (%)
1	9,800	9,78	100
2	9,924	9,78	101
3	9,986	9,78	102
4	9,949	9,78	102
5	10,048	9,78	103

Para determinar el t teórico o crítico para grados de libertad de $n-1$ (es decir de $5-1=4$), un valor $\alpha=0,05$ y 2 colas, se extrajo de tabla el t crítico que fue de 2,776, cumpliéndose que $t_{\text{calc}} < t_{\text{crit}}$, ya que $0,786 < 2,776$. Es decir, no hubo diferencias significativas.

3.5 Determinación de la incertidumbre

La determinación de la incertidumbre incluye la determinación de las fuentes y materiales donde se encuentran las incertidumbres, los resultados de los porcentajes de repetibilidad, de reproducibilidad y exactitud (Tabla 7); combinar las diferentes incertidumbres y la determinación de la incertidumbre expandida multiplicado la incertidumbre combinada por un factor de cobertura de $k = 2$, a fin de entregar un 95% de confianza para establecer el intervalo entorno

al resultado de la medición en el cual se puede esperar que se incluya la mayor fracción de la distribución de los valores que se pueden atribuir razonablemente al mesurando.

Tabla 7. Porcentajes de repetibilidad, reproducibilidad, para el estándar más bajo (4 ppb) y exactitud para el MCR

	$\mu\text{g/L}$	%
Repetibilidad	0,121	3,03
Reproducibilidad	0,0822	2,06
Exactitud	0,0919	0,94

La incertidumbre de los materiales se trató de reducir en lo posible, adquiriendo balones certificados marca Boeco ($\pm 0,1$ mL), micropipetas Boeco de 10 a 1000 μL ($\pm 0,13$ %) y 0 a 100 ml ($\pm 0,11$ %) para preparar las diluciones con mayor exactitud y precisión.

Para el estándar de concentración de 4 a 60 $\mu\text{g/L}$ se obtuvo una incertidumbre combinada de 9,31 % y una incertidumbre expandida de $2 \times 9,31$ % que representa un nivel de confianza del 95 % dentro del cual se encontrará el valor real.

El método está validado ya que la incertidumbre no sobrepasa el valor de ± 20 de concentración según la guía alemana Eurachem para validación de métodos (Magnusson B. y Örnemark U., 2014).

3.6 Análisis de Varianza

Se aplicó un ANOVA simple con el programa de Statgraphics Centurion XVI. El programa construido permitió obtener un Resumen Estadístico para Absorbancia, donde se encuentran los resultados de promedio, desviación estándar, coeficiente de variación (%), el valor máximo y mínimo de los datos de absorbancia de los 6 días para cada concentración, la Tabla ANOVA para Absorbancia por Concentración (Tabla 8), resultados de suma de cuadrados, grados de libertad, cuadrado medio y razón F, la Tabla de Medias para Absorbancia por concentración con intervalos de confianza del 95,0 % y los gráficos que ayudan a interpretar los resultados con la dispersión de datos, gráficos de medias, medianas y cuantiles.

Tabla 8. Tabla ANOVA para Absorbancia por Concentración

Fuente	Suma de Cuadrados	g.l	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1,27395	8	0,159244	724,09	0,0000
Intra grupos	0,00989649	45	0,0002199		
Total (Corr.)	1,28385	53			

4. CONCLUSIONES

Se buscó validar un método para análisis de arsénico en el agua potable de la ciudad de Ibarra – Ecuador y sus sectores periféricos. La técnica utilizada fue espectrofotometría de absorción atómica generando un hidruro con la previa reacción de reducción de As^{+5} a As^{+3} con $NaBH_4$ en un medio ácido de HCl.

Se probó cambiando la concentración de reactivos, variando el flujo de gases, el amperaje de la lámpara, con y sin aplicación de digestión y añadiendo yoduro de potasio para acelerar la reducción, pero en todos los casos se obtuvo el mismo resultado que al seguir las condiciones señaladas por el fabricante.

Se halló una linealidad con un coeficiente de correlación de 0,9997, un error en la calibración de 0,00247 y una incertidumbre de calibración de 0,35. El límite de detección fue 4,49 ppb, el límite de cuantificación 5,244 ppb, el coeficiente de variación de repetibilidad fue 2,65 % y el coeficiente de variación de reproducibilidad fue 2,69 %.

La exactitud se determinó con la muestra de referencia (MCR) mediante una prueba de Student de dos colas, concluyendo que no existe diferencia significativa entre la lectura en el equipo y la concentración certificada de la MCR. Estos resultados permitieron validar el método de detección de arsénico por generación de hidruros en EMAPQ con una incertidumbre expandida de $\pm 18,63 \mu\text{g/L}$. Adicionalmente, se estableció que el tipo de agua potable empleada para estos ensayos en EMAPQ no presentó niveles altos de arsénico.

REFERENCIAS

Aguirre L., Garcia F., Garcia T., Illera M., Juncadella M., Lizondo M., et al. (2001). Validación de métodos analíticos. Barcelona (España): Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI).

Akter K. F., Chen Z., Smith L., Davey D., y Naidu R. (2005). Speciation of arsenic in ground water samples: A comparative study of CE-UV, HG-AAS and LC-ICP-MS. *Talanta*, 68(2), 406-415.

Benítez M. E., Osicka R. M., Giménez M. C., y Garro O. A. (2000). Arsénico total en aguas subterráneas en el centro-este de la Provincia del Chaco. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*, from http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2000/8_exactas/e_pdf/e_033.pdf

Castro M. L. (2006). Presencia de arsénico en el agua de bebida en América Latina y su efecto en la salud pública. Paper presented at the International Congress in Natural Arsenic in Groundwaters of Latin America, Mexico DC (Mexico).

Cumbal L., Aguirre V., Tipán I., Murgueitio E., y Chávez C. (2006). El origen del arsénico en las aguas y sedimentos de la laguna de Papallacta. *Ciencia*, 9(2), 123-147.

EMAAP-Q. (2005). Monitoreo especial de Arsénico de las fuentes rurales del Distrito Sur y Centro Oriental. Quito (Ecuador): Empresa Metropolitana de Agua Potable y Alcantarillado de Quito.

Finkelman J., Corey G., y Calderón R. (1994). *Epidemiología ambiental: un proyecto para América Latina y el Caribe*.

INEN. (2011). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1108. Agua potable. Requisitos. (pp. 11).

Kumaresan M., y Riyazuddin P. (2001). Overview of speciation chemistry of arsenic. *Current Science*, 80(7), 837-846.

Lillo J. (2003). Peligros geoquímicos: arsénico de origen natural en las aguas. from Universidad Complutense de Madrid, Grupo de Estudios de Minería y Medioambiente,: <https://www.ucm.es/data/cont/media/www/pag-15564/Peligros%20geoqu%C3%ADmicos%20del%20ars%C3%A9nico%20-%20Javier%20Lillo.pdf>

Magnusson B., y Örnemark U. (2014). *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics* (2nd ed.).

GUÍA PARA AUTORES

Tipos de publicaciones

Los trabajos considerados para publicación en la revista podrán pertenecer a las siguientes categorías:

- ***Artículos de investigación***, que presenten resultados de trabajos originales de investigación científica o técnica, de **5000 palabras de extensión máxima** (aproximadamente 14 hojas escritas a doble espacio, Times New Roman 12 puntos).
- ***Artículos de revisión***, enfocados a la actualización del estado de la técnica o el conocimiento en un campo científico particular, en base la revisión de trabajos publicados o no, **10000 palabras de extensión máxima** (aproximadamente 28 hojas). (aproximadamente 28 hojas).
- ***Notas de investigación***, que presenten resultados preliminares provenientes de investigaciones originales que, por su carácter y alcance, requieren de una rápida difusión, no teniendo una extensión mayor a **2500 palabras de extensión máxima** (aproximadamente 7 hojas).
- ***Cartas al Director***, en las que se manifiesten críticas, análisis y/o interpretaciones sobre trabajos publicados en la revista que, a juicio del Comité Editorial, complementen y enriquezcan la discusión sobre las temáticas abordadas, de **750 palabras de extensión máxima** (aproximadamente 2 hojas).

Principios generales

Las contribuciones a la presente publicación son responsabilidad exclusiva de los autores, no comprometiendo a la Universidad Técnica de Ambato en general ni a la Facultad de Ciencia y Tecnología de Alimentos en particular.

Mediante el envío de sus trabajos originales a la revista, los autores asumen implícitamente una posición ética respecto a la autoría de los trabajos por la cual cada uno de ellos acepta la publicación del trabajo, siendo incluido como autor por haber tenido una relación directa con la elaboración del trabajo, sea esta de planificación, diseño, ejecución, análisis de datos, redacción, revisión o edición del manuscrito. No se considera éticamente aceptable la inclusión de autores con vinculación indirecta, (p.ej.: haber financiado o auspiciado el trabajo de investigación) o vinculación nula (p. ej.: ser parte del mismo grupo de investigación, pero sin relación con el trabajo concernido). Los trabajos deberán ser originales e inéditos, no haberse enviado previa o simultáneamente a otra publicación, sea en formato papel o electrónica,

y cumplir con todas las especificaciones de estilo descritas en el documento Guía para Autores para que sean aceptados. Todas las referencias a trabajos ajenos, han de ser convenientemente expresadas de forma implícita o explícita, reduciendo al mínimo las citas textuales. Se considerará autoplagio la copia textual o duplicación de material de trabajos previos de los autores sin una indicación clara del origen del mismo. El Comité Editorial se reserva el derecho de rechazar todo artículo que no esté conforme a las prescripciones mencionadas.

Proceso editorial

A la recepción de los trabajos originales, éstos se enviarán de forma anónima a dos revisores elegidos por el Comité Editorial. En el plazo de 30 días naturales, se determinará la aceptación o no de los trabajos remitidos para su ingreso en el proceso de revisión. En caso positivo, se remitirá a los autores las correcciones que los revisores hayan estimado conveniente llevar a cabo. Los autores dispondrán de un nuevo plazo de 30 días para llevar a cabo las correcciones y remitir de nuevo su trabajo a la revista, explicitando todas las modificaciones llevadas a cambio en relación al documento enviado en primera instancia a la revista. Si el resultado de la corrección es a satisfacción del Comité Editorial, será aceptado para su inmediata publicación en la revista. En caso negativo, se continuará el proceso de revisión, dejando para un próximo número la posible publicación del artículo.

Formato

El artículo deberá ser remitido en formato electrónico, por correo electrónico o correo postal adjuntando CD-ROM o medio de almacenamiento digital análogo, editable mediante software de procesamiento de texto, preferentemente Microsoft Word o similar, con la siguiente configuración de página:

- Formato A4.
- Márgenes laterales de 3,0 cm y superior e inferior de 2,5 cm.
- Tipografía Times New Roman de 12 puntos en el cuerpo de texto principal.
- Una sola columna, escrita a doble espacio
- Líneas numeradas de forma continua.

En el correo electrónico o CD-ROM deberán entregarse las tablas y figuras incluidas en cada artículo en sus formatos nativos originales (Excel, Powerpoint, etc.), de manera que puedan ser editadas durante el proceso de maquetación, debiendo estar numeradas de la misma forma en que aparecen en el artículo.

Contenido de los artículos de investigación

• Primera página

1. Título

Se escribirá en castellano, tamaño Times New Roman 14, centrado, en letras mayúsculas, tendrá menos de 15 palabras. Se proporcionará debajo, en el mismo formato, la traducción al idioma inglés.

2. Autores

Se incluirá el primer apellido y las iniciales de su(s) nombre(s), la indicación mediante un superíndice en números arábigos de la dirección institucional bajo los nombres y el correo electrónico de contacto del autor de correspondencia, que se significará mediante un asterisco.

3. Resumen/Abstract

El resumen se hará en castellano, no excediendo de 300 palabras. Se escribirá en un sólo párrafo a espacio simple, en el que se incluirá una breve introducción, el objetivo de la investigación, los métodos utilizados y los principales resultados y conclusiones. No se incluirán aquí subdivisiones ni citas bibliográficas.

El resumen se traducirá al idioma inglés y se colocará en párrafo aparte del mismo teniendo la palabra Abstract como encabezado.

4. Palabras clave/Keywords

Se proporcionarán, a continuación del Resumen, hasta cinco palabras clave en castellano, lo más descriptivas posibles del trabajo efectuado, de forma que se facilite la búsqueda del artículo a través de los sistemas de indexación y búsqueda bibliográfica. A este respecto, deberán ser, preferentemente, palabras no presentes en el título. De igual manera, tras el *Abstract*, se proporcionarán las mismas palabras clave (*Keywords*), escritas en idioma inglés.

● Estructura del trabajo

El trabajo se escribirá en texto a columna simple, tamaño Times New Roman 12, justificado. Las secciones se subdividirán, en caso necesario, mediante esquema numerado (1.1, 1.1.1, 1.1.1.1; 1.2, etc.), debiendo las siguientes *secciones*:

1. Resumen (ya descrito en la descripción de la Primera página)

2. Introducción, en la que se justificará la motivación que ha llevado a los autores a emprender la investigación y los objetivos perseguidos. Aportará una adecuada base de conocimiento sobre el tema estudiado, evitando extenderse en la descripción de las referencias y la discusión sobre las mismas.

3. Material y métodos utilizados en la investigación, describiendo todo de forma tal que el lector pueda ser capaz de entender completamente o replicar las condiciones experimentales bajo las cuales han trabajado los autores.

A este respecto, es necesario mencionar marca y modelo de los principales equipos utilizados y referenciar de forma precisa las técnicas analíticas empleadas, de

preferencia, optando por normas estandarizadas y reconocidas en el ámbito internacional, salvo cuando los métodos hayan sido publicados con anterioridad, en cuyo caso, se mencionarán como referencia, describiendo únicamente las modificaciones sustanciales.

Se pide a los autores describir adecuadamente el diseño experimental elegido, las herramientas matemáticas y estadísticas utilizadas y el empleo de unidades de medida del Sistema Internacional, así como adherirse a las normas internacionales de nomenclatura de plantas y animales y hacer uso de abreviaturas previamente explicadas en el texto.

4. Resultados y discusión de los mismos, aportando las tablas, figuras, gráficos y diagramas que sean necesarias. Los resultados serán claros y concisos.

Todo aporte de información original por parte de los autores deberá ser contrastado, en la medida de lo posible, con referencias a otros autores, explicando el significado que la nueva información supone dentro del contexto científico-técnico en el que se inserta el artículo. La mera descripción numérica o textual de los resultados, dejada a libre interpretación del lector, no será considerada aceptable por el Comité Editorial en ningún caso.

5. Conclusiones, en las que se resuman los principales resultados obtenidos en la investigación. Esta sección, podrá tener entidad propia o integrarse dentro de la sección precedente.

6. Agradecimientos, sección opcional de la que se servirán los autores para el reconocimiento a aquellas personas u organismos que proveyeron de ayuda durante la elaboración del trabajo, bien aportando fuentes de financiación, material experimental, corrigiendo el manuscrito o aportando su opinión crítica.

7. Referencias bibliográficas, en las que se incluirán las fuentes de información utilizadas por los autores en la introducción, material y métodos y discusión de los resultados. Todas las citas utilizadas en el texto han de estar presentes en las referencias y cada referencia, ha de estar citada en el texto. El formato utilizado para la inclusión de las citas y referencias bibliográficas será APA 6ª edición (<http://www.apastyle.org>). A este respecto, se recomienda a los autores la utilización de software de gestión bibliográfica (Endnote, Refworks, Mendeley, etc.) para evitar errores de formato y facilitar el flujo de trabajo al Comité Editorial. En cualquier caso, las referencias han de estar completas, de forma que el lector pueda localizar sin dificultad la fuente de información utilizada por los autores.

● Inserción de elementos no textuales en el trabajo

1. **Tablas:** se proporcionarán aparte del texto principal y numerarán en Times New Roman 10, en la parte superior, de forma correlativa (Tabla 1, Tabla 2, etc.) según se vayan citando en el texto. Cada tabla deberá venir acompañada, a continuación de su numeración, de un título adecuadamente informativo, aportando las condiciones experimentales si es necesario, de forma que el lector no tenga la necesidad de referirse al texto para entender el contenido de la tabla (autoexplicativa). Los autores podrán utilizar notas al pie de las tablas para aclarar cualquier información o abreviatura utilizada, empleando para ello superíndices. Los autores deberán asegurarse que la información ofrecida por las tablas no duplica la ofrecida por las figuras y viceversa. Al aportar información analítica, los autores deberán especificar los valores promedio y estadísticos de variabilidad de los datos (desviación típica, error estándar, coeficiente de variación, etc.), además del número de réplicas llevadas a cabo en cada determinación. Las probabilidades se indicarán mediante la siguiente convención: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ y *** $P < 0,001$. El texto dentro de las tablas será Times New Roman 10. Se recomienda emplear las herramientas de formato propias del procesador de textos Microsoft Word para crear las tablas. La inserción de tablas en formato gráfico (JPG, TIFF etc.) está desaconsejada, por no permitir la correcta edición de las mismas en la versión final de la revista.

2. **Figuras:** se proporcionarán aparte del texto principal y numerarán, en Times New Roman 10, en la parte inferior, fuera de la propia figura, de forma correlativa (Figura 1, Figura 2, etc.) según se vayan citando en el texto. Cada figura deberá venir acompañada, a continuación de su numeración, de un título adecuadamente informativo, de forma que el lector no tenga la necesidad de referirse al texto para entender el contenido de la figura (autoexplicativa). Las figuras han de ser presentadas en formatos gráficos de adecuada calidad, como JPEG (con compresión no superior al 80%) o TIFF. Los formatos optimizados para presentación en pantalla (GIF, BMP, PICT, etc.) no ofrecen suficiente calidad para la impresión en formato papel, evitar su uso. Se recomienda, para elementos a color, una resolución mínima de 300 ppp (píxeles por pulgada), para medios tonos o escala de grises, una resolución mínima de 500 ppp y para elementos bitmap (blanco/negro) una resolución mínima de 1000 ppp.

La revista se publica en formato digital a todo color pero, dado que la versión impresa de la revista se edita en blanco y negro, se recomienda a los autores elaborar las figuras de forma que sigan siendo comprensibles en la gama de tonalidades de escala de grises, maximizando el contraste de los elementos gráficos, empleando símbolos claramente diferenciados, etc.

3. **Ecuaciones:** se intercalarán en el texto principal a medida que sea necesario, numerándose de forma correlativa mediante la notación Ecuación 1, etc.

Para su incorporación al texto, se aconseja el uso del editor de ecuaciones del procesador de textos Microsoft Word o análogo (LaTeX, etc.). Todos los términos de cada ecuación deberán ser explicados convenientemente, incluyendo las unidades de cada término.

Contenido de trabajos diferentes a los artículos de investigación

Para las revisiones, notas de investigación y cartas al Editor, el formato de estos trabajos será similar al de los artículos de investigación en cuanto al tipo y tamaño de letra en el cuerpo principal (Times New Roman 12) y las figuras y tablas (Times New Roman 10). La estructura de las notas de investigación será análoga a la de los artículos de investigación, salvo en su extensión. Las revisiones incluirán resumen y palabras clave, pero no material y métodos ni resultados y discusión, aunque sí pueden incluir una sección de conclusiones, además de las referencias bibliográficas. Las cartas al Editor, podrán tener estructura libre.

Universidad Técnica de Ambato

Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos

Av. Los Chasquis y Rio Payamino

Campus Académico Huachi

Teléfono: +593 (3) 2400 987/989

Fax: +593 (3) 2400 998

e-mail: fcial@uta.edu.ec

Casilla: 18 01 0334

www.fcial.uta.edu.ec

