

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA  
ESCUELA DE POSGRADO  
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**



**“CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS  
BIOACTIVOS EN EL PROCESADO DEL ZUMO DE HUITO  
(*Genipa americana* L.)”**

**Presentada por:**

**DEYSI ROCÍO GUZMÁN LOAYZA**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE  
MAGISTER SCIENTIAE EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**Lima - Perú**

**2021**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**“CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS  
BIOACTIVOS EN EL PROCESADO DEL ZUMO DE HUITO**

**(*Genipa americana* L.)”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE  
MAGISTER SCIENTIAE**

**Presentada por:**

**DEYSI ROCÍO GUZMÁN LOAYZA**

**Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:**

---

**Mg.Sc. Carlos Elías Peñafiel**  
**PRESIDENTE**

---

**Dr. Américo Guevara Pérez**  
**ASESOR**

---

**Dra. Ritva Repo de Carrasco**  
**MIEMBRO**

---

**Mg.Sc. Beatriz Hatta Sakoda**  
**MIEMBRO**

*Dedicado a Dios por su inmenso amor y por permitirme haber culminado a  
pesar de todos los obstáculos.*

*Amén*

*“The fruit of silence is prayer.*

*The fruit of prayer is faith.*

*The fruit of faith is love.*

*The fruit of love es service.*

*The fruit of service es peace”.*

*Madre Teresa de Calcuta*

## *Agradecimientos*

*Al Dr. Américo Guevara Pérez por su asesoramiento en el presente trabajo de investigación.*

*Al Vicerrectorado Académico por el apoyo financiero para la culminación de esta investigación.*

*Al Ing. Enrique Gonzales Mora PhD. en representación del Laboratorio de Pulpa y papel por permitirme el uso de las instalaciones y equipos.*

*A mi madre por su inmenso amor y apoyo brindado, asistiendo a mis niñas para que pueda desarrollar mi investigación.*

*Un agradecimiento al Sr. Luis Enrique Cabrera Vaquerizo. por su invaluable ayuda y asistencia en cada etapa de desarrollo de esta investigación.*

## ÍNDICE GENERAL

<b>I.INTRODUCCION.....</b>	<b>1</b>
<b>II.REVISION DE LITERATURA .....</b>	<b>3</b>
2.1 HUITO.....	3
2.1.1. Descripción.....	3
2.1.2. Clasificación taxonómica. ....	4
2.1.3. Distribución geográfica .....	4
2.1.4. Composición nutricional del fruto.....	4
2.1.5. Usos .....	6
2.2 COMPUESTOS BIOACTIVOS.....	6
2.2.1. Vitamina c.....	6
2.2.2 Compuestos iridoides .....	8
2.2.3 Compuestos polifenólicos.....	10
2.3 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE .....	11
2.3.1. Mecanismos de reacción de los antioxidantes.....	12
2.3.2.Métodos .....	14
2.3.3. Factores que influyen sobre los antioxidantes.....	16
2.4 ZUMO DE FRUTAS .....	17
2.4.1 Definición.....	17
2.4.2 Características físico y químicas para la obtención de zumos de fruta .....	17
2.5 PASTEURIZACIÓN .....	17
2.6 SORBATO DE POTASIO.....	19
<b>III. MATERIALES Y METODOS.....</b>	<b>20</b>

3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN .....	20
3.2 OBTENCION DE LA MATERIA PRIMA .....	20
3.3 MATERIALES UTILIZADOS.....	20
3.4 EQUIPOS.....	21
3.5 MÉTODOS DE ANÁLISIS.....	21
3.5.1 Fisicoquímicos.....	21
3.5.2 Microbiológicos:.....	22
3.5.3 Análisis estadístico .....	23
3.6 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL .....	23
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSION.....</b>	<b>29</b>
4.1 CARACTERIZACIÓN DEL FRUTO DE HUITO .....	29
4.2 OBTENCIÓN DEL ZUMO .....	31
4.3 SELECCIÓN DE LA MEJOR MUESTRA DE ZUMO OBTENIDO DESPUÉS DEL ACONDICIONAMIENTO Y PASTEURIZACIÓN.....	33
4.4 EFECTO DEL PROCESAMIENTO Y ESTABILIDAD EN LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS BIOACTIVOS.....	36
4.5 ALMACENAMIENTO DEL ZUMO A TEMPERATURA AMBIENTE.....	42
4.6 CARACTERIZACIÓN DEL PRODUCTO FINAL DESPUÉS DEL ALMACENAJE.....	43
<b>V. CONCLUSIONES .....</b>	<b>46</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>47</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>48</b>
<b>VIII. ANEXOS .....</b>	<b>61</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Proporciones del fruto de <i>Genipa americana</i> L. ....	4
Cuadro 2: Composición del fruto de <i>Genipa americana</i> L. ....	5
Cuadro 3: Características físicas del fruto in natura de <i>Genipa americana</i> L. ....	30
Cuadro 4: Composición química de la pulpa de huito. ....	31
Cuadro 5. Cuadro comparativo del análisis microbiológico de los diferentes tratamientos de los zumos de <i>Genipa americana</i> L. ....	34
Cuadro 6: Capacidad antioxidante y Compuestos bioactivos de zumo Huito en los cuatro tratamientos ....	35
Cuadro 7: Efecto del procesamiento sobre la Capacidad antioxidante ....	36
Cuadro 8: Efecto del procesamiento sobre los Compuestos Bioactivos. ....	38
Cuadro 9: Control microbiológico del zumo de huito hasta los 90 días de almacenamiento a temperatura ambiente. ....	42
Cuadro 10: Composición físico química del zumo de <i>Genipa americana</i> L. ....	44
Cuadro 11: Composición mineral del zumo de <i>Genipa americana</i> L. ....	45

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estructuras isoméricas del ácido ascórbico.....	7
Figura 2: Estructura básica de los iridoides: (A) simple; (B) glicosilado; (C) secoiridoide.	8
Figura 3: Vista de las partes internas del fruto de Huito (imagen propia).....	9
Figura 4: Iridoides presentes en <i>Genipa americana</i> L.: (A) genipina, (B) geniposido y (C) ácido geniposídico .....	9
Figura 5: Representación de la reacción de estabilización de un radical por un antioxidante.....	14
Figura 6: Estructura del sorbato de potasio .....	19
Figura 7: Flujo de operaciones para la obtención del zumo de huito .....	24
Figura 8: Esquema experimental para obtener el zumo de huito ( <i>Genipa americana</i> L.)....	28
Figura 9: Frutos de huito: (A) y (B) frutos de Bahía- Brasil (Souza, 2007); (C) Frutos en estudio, origen Pucallpa – Perú. ....	29
Figura 10: Balance de materia del zumo de huito. ....	32
Figura 11: Variación de la Capacidad antioxidante ( $\mu\text{mol}/100\text{mL}$ ) .....	38
Figura 12: Variación del contenido de Vitamina C ( $\text{g}/100\text{ mL}$ ).....	39
Figura 13: Variación del contenido de Polifenoles totales ( $\text{mg EAG}/100\text{g}$ ).....	40
Figura 14: Variación del Contenido de Genipina (azul) y Ac. Geniposido (verde) ( $\text{mg}/100\text{g}$ ) .....	41

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Métodos Analíticos.....	62
Anexo 2: Análisis de Genipina y Acido Geniposidico por Cromatografía UHPLC.....	68
Anexo 3: Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimento y bebidas de consumo humano.....	71
Anexo 4: Análisis estadístico de los compuestos bioactivos en los tratamientos .....	72
Anexo 5: Análisis de minerales en el zumo de Huito.....	102

## RESUMEN

El huito (*Genipa americana* L.) es una fruta con propiedades nutricionales, funcionales e hipoglucemiantes, de allí el interés de realizar investigaciones para contribuir con su conocimiento. Esta investigación tuvo como objetivo, determinar el efecto del procesamiento sobre la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos en el zumo de huito. Primeramente, se caracterizó biométrica y fisicoquímicamente al fruto evaluando su composición química proximal, vitamina C, polifenoles totales, genipina, ácido geniposídico y capacidad antioxidante. Obtenido el zumo, con la finalidad de determinar su estabilidad microbiológica, se trabajaron con cuatro tratamientos (con adición y sin adición de conservante; con pasteurización y sin pasteurización), estos tratamientos fueron evaluados en el tiempo cero, quince y treinta días de almacenamiento a temperatura ambiente, en mohos y levaduras, aerobios mesófilos viables y coliformes totales; el mejor tratamiento, fue almacenado por 90 días y posteriormente caracterizado en su composición química, pH, acidez, vitamina C, polifenoles totales, capacidad antioxidante, genipina, ácido geniposídico y contenido mineral. Se determinó que el huito es bajo en grasa y alto en carbohidratos 0,43 y 13,49 por ciento respectivamente, contiene 219,18 mg EAG/100g de polifenoles totales; 0,72 mg/100g de genipina; 1,64 mg/100g de ácido geniposídico y 1782,60  $\mu\text{molTE}/100\text{g}$  de capacidad antioxidante. El zumo sometido a pasteurización y con conservador químico, mostro estabilidad microbiológica en el tiempo. En el procesamiento la extracción y la pasteurización aumentaron la capacidad antioxidante, pero redujeron la vitamina C y polifenoles totales, aunque estos últimos no variaron significativamente, en cambio la genipina y el ácido geniposídico se redujeron significativamente. La composición química del zumo obtenido en porcentaje fue: humedad 82,80; grasa 3,19; proteína 1,94; cenizas 3,51; carbohidratos 8,56; brix 16,24; azúcares reductores 6,94; acidez 1,58 g/100 mL de ácido cítrico; vitamina C 0,53 g/100mL; polifenoles totales 115,42 mgEAG/100g; genipina 0,41 y ácido geniposídico 1,66 mg/100 mL; capacidad antioxidante 2013,40  $\mu\text{molTE}/100\text{g}$ . En minerales calcio 96,37; fosforo 216,14; hierro 4,18; magnesio 260,61; potasio 3674,00; sodio 25,57; zinc 0,68; silicio 9,91 (como óxido de silicio) y boro 6,66 por ciento, componentes que otorgan a la bebida gran interés nutricional y funcional.

**Palabras claves:** Huito, capacidad antioxidante, compuestos bioactivos, genipina, ácido geniposido, vitamina C, minerales, procesamiento.

## ABSTRACT

The huito (*Genipa americana* L.) is a fruit with nutritional, functional and hypoglycemic properties, hence the interest in conducting research to contribute to its knowledge. This research aimed to determine the effect of processing on the antioxidant capacity and bioactive compounds in huito juice. First, the fruit was biometrically and physicochemically characterized by evaluating its proximal chemical composition, vitamin C, total polyphenols, genipin, geniposidic acid and antioxidant capacity. Once the juice was obtained, in order to determine its microbiological stability, four treatments were used (with addition and without the addition of preservative; with pasteurization and without pasteurization), these treatments were evaluated at time zero, fifteen and thirty days of storage at room temperature, in molds and yeasts, viable mesophilic aerobes and total coliforms; the best treatment was stored for 90 days and subsequently characterized in its chemical composition, pH, acidity, vitamin C, total polyphenols, antioxidant capacity, genipin, geniposidic acid and mineral content. It was determined that huito is low in fat and high in carbohydrates 0.43 and 13.49 percent respectively, it contains 219.18 mg EAG / 100g of total polyphenols; 0.72 mg / 100g of genipin; 1.64 mg / 100g of geniposidic acid and 1782.60  $\mu\text{molTE}$  / 100g of antioxidant capacity. The juice subjected to pasteurization and with a chemical preservative, showed microbiological stability over time. In processing, extraction and pasteurization increased the antioxidant capacity, but reduced vitamin C and total polyphenols, although the latter did not vary significantly, whereas genipin and geniposidic acid were significantly reduced. The chemical composition of the juice obtained in percentage was: humidity 82.80; fat 3.19; protein 1.94; ash 3.51; carbohydrates 8.56; brix 16.24; reducing sugars 6.94; acidity 1.58 g / 100 mL of citric acid; vitamin C 0.53 g / 100mL; total polyphenols 115.42 mgEAG / 100g; genipin 0.41 and geniposidic acid 1.66 mg / 100 mL; antioxidant capacity 2013,40  $\mu\text{molTE}$  / 100g. In minerals calcium 96,37; phosphorus 216.14; iron 4.18; magnesium 260.61; potassium 3674.00; sodium 25.57; zinc 0.68; silicon 9.91 (as silicon oxide) and boron 6.66 percent, components that give the drink great nutritional and functional interest.

**Keywords:** Huito, antioxidant capacity, bioactive compounds, genipin, geniposide acid, vitamin C, minerals, processing.

## I. INTRODUCCIÓN

El Perú es un país con la mayor diversidad de productos alimenticios y agrícolas dentro de estos se encuentran las frutas, con muchos atributos particulares y beneficios para la salud (Pérez-Jiménez y Saura – Calixto 2007); la población solo se limita al consumo de frutas conocidas o comunes, sin embargo nuestros bosques tropicales contienen una gran variedad de frutas silvestres (MINAGRI 2015), los cuales juegan un rol importante en la dieta de las comunidades nativas; algunas de estas frutas son fuente excepcional de vitaminas y otros componentes bioactivos aún poco estudiados, con un gran potencial de aprovechamiento (Álvarez 2013), por falta de investigaciones. El huitito (*Genipa americana L.*), es una de estas frutas, crece en la selva peruana, y es poco conocida.

Neta (2014) indica que este fruto tiene compuestos bioactivos importantísimos que podrían aportar al restablecimiento de la salud. Kuskoski et al. (2005) menciona que el consumo de frutas y verduras está asociado al bajo riesgo de incidencias y mortalidad de cáncer y a menores índices de mortalidad por enfermedades coronarias para que se pueda mantener una buena salud.

Por otro lado, los árboles frutales del bosque necesitan ser integrados, el valor económico de estos productos no solo puede servir como un estímulo para la conservación de los bosques, sino que también como una alternativa para generar el incremento de ingresos a las comunidades locales. Bajo esta premisa se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general:

Evaluar el efecto del procesamiento sobre la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos en el zumo de huitito (*Genipa americana L.*).

Objetivos específicos:

- Caracterizar fisicoquímicamente al fruto de huito en análisis biométrico, firmeza, color, composición química proximal, pH, brix, acidez titulable, vitamina C, capacidad antioxidante, polifenólicos totales, contenido de Genipina y ácido Geniposídico.
- Determinar el efecto del procesamiento en la capacidad antioxidante y en el contenido de sus compuestos bioactivos (polifenoles totales, vitamina C, genipina y ácido geniposídico) del zumo de huito.
- Caracterizar el zumo obtenido en Capacidad antioxidante, compuestos bioactivos, composición química proximal y contenido mineral (calcio, fosforo, hierro, magnesio, potasio, sodio, zinc, boro y oxido de silicio).

## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1. HUITO**

#### **2.1.1. Descripción**

Es un árbol de 20-50 cm de diámetro y 6-25 m de altura total, con fuste cilíndrico, regular, la ramificación desde el segundo tercio, la base del fuste recta. Corteza externa lisa o agrietada finamente, color grisáceo; corteza interna homogénea de color blanquecino. Ramitas terminales con sección cuadrangular, de 4-7 cm de grosor, glabras.

Hojas simples opuestas y decusadas, el peciolo de 0.5-1 cm de longitud, las láminas de 22-40 cm de longitud y de 7-11 cm de ancho, oblanciadas, entera a levemente sinuadas, la nerviación pinnada, los nervios secundarios 10-20 pares, el ápice agudo a obtuso y cortamente acuminado, la base decurrente, las hojas glabras, las estipulas triangulares a lanceoladas, de 1.5-2.5 cm de longitud.

Inflorescencia cimbras axilares o terminales de 3-9 cm de longitud, con pocas flores las que son grandes y hermafroditas, actinomorfas, el pedicelo de 5-15 mm de longitud, el hipantio más cáliz 8-20 mm de longitud, el cáliz de 5-6 dentado, la corola tubular campanulada, de color blanco a amarillo, de 2-3 cm de longitud, resuelta en cinco pétalos seríceo-pubescentes, los estambres 5, con las anteras sésiles en la garganta de la corola, el ovario 2-locular (Reynel et al. 2016).

Frutos son bayas globosas a subglobosas de 5-9 cm de diámetro, con una protuberancia apical corta y cilíndrica, la superficie lisa, color marrón claro, con lenticelas pequeñas, las semillas numerosas, ovoides u oblongos-aplanadas, de 4-8 mm de longitud, color amarillo claro cuando son frescas (Reynel et al. 2016). Estos frutos contienen cerca de 1200 semillas /Kg (Pereira 1982) con 50% de pureza y CATIE (1999) reporta 14000-33700 semillas /Kg.

**2.1.2. Clasificación taxonómica.** Según Reynel et al. (2016), el huito tiene la siguiente clasificación

**Familia:** Rubiaceae

**Nombre científico:** *Genipa americana* L.

**Nombres comunes:** huito, jagua, jenipapo o genipá(Brazil), caruto (Venezuela), bois de fer (francés).

**Sinónimos botánicos:** *Genipa excelsa* Krause, *Genipa oblongifolia* R. et P.

### 2.1.3. Distribución geográfica

Esta especie se distribuye en selva baja, hasta 700 msnm, en bosques primarios. Cultivada en la Amazonia por sus frutos comestibles. En condiciones silvestres, se le observa en ámbitos con pluviosidad elevada y continua, aunque se adapta también en zonas con una estación seca marcada; es una especie con tendencia heliófita, presente en bosques secundarios tempranos o tardíos, en suelos con tendencia arenosa, a veces en condiciones ribereñas y de inundación temporal (Reynel et al. 2003).

### 2.1.4. Composición nutricional del fruto

En el Cuadro 1 se muestran las proporciones de componentes del fruto de *Genipa americana*

**Cuadro 1: Proporciones del fruto de *Genipa americana* L.**

<b>Constituyente</b>	<b>Rezende (2010)</b>	<b>Hamacek (2013)</b>
Cascara (%)	12,05	14,34
Pulpa (%)	47,81	47,36
Hueso (%)	40,61	38,30

Fuente: Rezende (2010), Hamacek (2013)

En el Cuadro 2 se presenta un resumen de la composición del fruto, reportados por varios autores.

**Cuadro 2: Composición del fruto de *Genipa americana* L.**

<b>Constituyente/autor</b>	<b>Morton (1987)</b>	<b>Rezende (2010)</b>	<b>Hamacek (2013)</b>	<b>Porto (2014)</b>	<b>Pacheco (2014)</b>
<b>Humedad (%)</b>	67,6	73,75	80,42	75,00	70,00
<b>Proteínas (%)</b>	5,2	0,68	1,59	0,67	0,5
<b>Lípidos (%)</b>	0,3	0,35	1,60	1,60	0,0
<b>Carbohidratos (%)</b>	-	15,69	14,57	20,53	22,1
<b>Fibra cruda (%)</b>	9,4	2,03	1,09	-	6,3
<b>Cenizas (%)</b>	1,2	1,22	0,74	2,20	1,1
<b>Valor calórico (kcal/100g)</b>	-	-	76,92	99,00	90,7
<b>Sólidos totales (Brix (%))</b>	-	18,34	11,40	-	15,20
<b>Acidez titulable (% de ác. cítrico)</b>	-	1,66	3,33	-	70,20
<b>pH</b>	-	3,60	3,87	-	3,85
<b>Otros componentes</b>	-	-	-	-	-
<b>Vitamina C (mg/100g)</b>	33,0	-	-	-	26,00
<b>Vitamina B (mg)</b>	0,04	-	-	-	-
<b>Calcio (mg)</b>	40,0	45,82	-	-	-
<b>Fosforo (mg)</b>	58,0	33,50	-	-	-
<b>Hierro (mg)</b>	3,6	0,80	-	-	-
<b>Niacina (mg)</b>	0,5	-	-	-	-
<b>Lisina (mg)</b>	316,0	-	-	-	-
<b>Metionina (mg)</b>	178,0	-	-	-	-
<b>Treonina (mg)</b>	219,0	-	-	-	-
<b>Triptófano (mg)</b>	57,0	-	-	-	-
<b>Glúcidos</b>	-	-	-	-	-

**Fuente:** Morton (1987), Rezende (2010), Hamacek et al. (2013), Porto et al. (2014), Pacheco (2014)

### **2.1.5. Usos**

Los frutos son comestibles de agradable sabor, se consumen frescos y se elabora con ellos, aguardiente, una bebida alcohólica tradicional, el *Huitochado*. La fruta verde, tostada dentro de hojas de plátano, produce un tinte de color negro, que algunos grupos nativos han empleado tradicionalmente para la pintura facial y del pelo; el tinte desaparece solo, luego de varios días. En la medicina tradicional, el tinte se usa para embellecer la piel, también se le atribuye el sanar y mejorar la piel en las zonas donde se le aplica (Reynel et al. 2003). La pulpa del fruto contiene pigmentos azules y morados, industrializados, con creciente demanda.

## **2.2.COMPUUESTOS BIOACTIVOS**

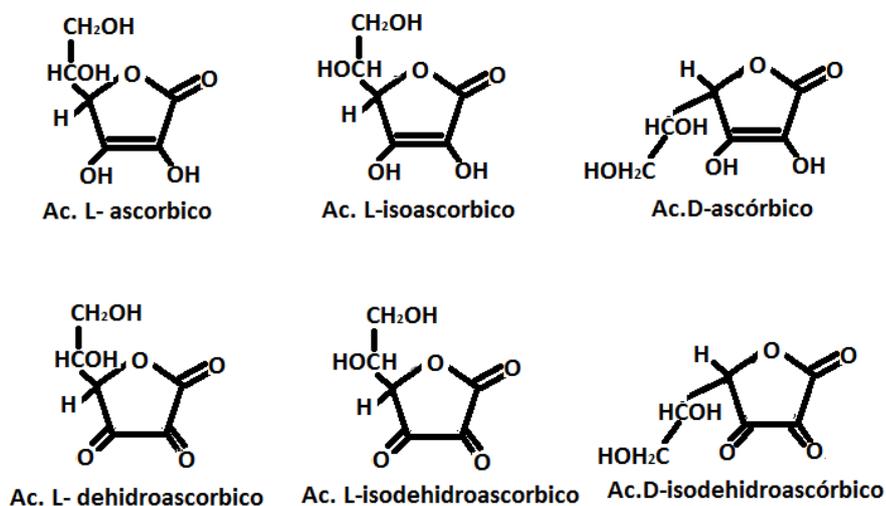
Compuestos orgánicos que tienen una actividad biológica en el organismo, sus componentes tienen una gran afinidad con sus moléculas, por lo que son altamente aprovechadas por nuestras células, los organismos y los sistemas. Así las frutas son consideradas como fuente importante de macro y micronutrientes, también poseen compuestos con propiedades bioactivas que proveen beneficios adicionales a la salud protegiendo al cuerpo humano contra diferentes dolencias crónicas como la obesidad, diabetes mellitus, dislipidemias, cánceres entre otros (Medeiros 2013).

La caracterización física y química de las frutas y la cuantificación de sus componentes activos son importantes para comprender su valor nutricional, muchos de los compuestos presentes en los alimentos tienen propiedades funcionales, sustancias con actividad antioxidante los cuales han recibido mucha atención porque ellos protegen el cuerpo humano del estrés oxidativo previniendo numerosos desordenes degenerativos crónicos (Souza et al. 2012).

### **2.2.1. Vitamina C.**

La vitamina C o ácido L-ascórbico compuesto a fin a los carbohidratos tiene propiedades ácidas y reductoras debidas al resto 2,3-enediol. En la Figura 1 se aprecia las formas isoméricas del ácido L-ascórbico (los ácidos L-ascórbico y L-dehidroascórbico, ambos poseen actividad vitamínica); este ácido existe naturalmente en frutas y hortalizas, está presente casi exclusivamente en la forma reducida del ácido L-ascórbico, es un compuesto muy polar y por tal muy soluble en soluciones acuosas (Fennema 2010). Actúa como un

agente reductor y es necesario para la síntesis de la fibra de colágeno a través del proceso de hidroxilación de la prolina y de la lisina (Valdés 2006).



**Figura 1: Estructuras isoméricas del ácido ascórbico.**

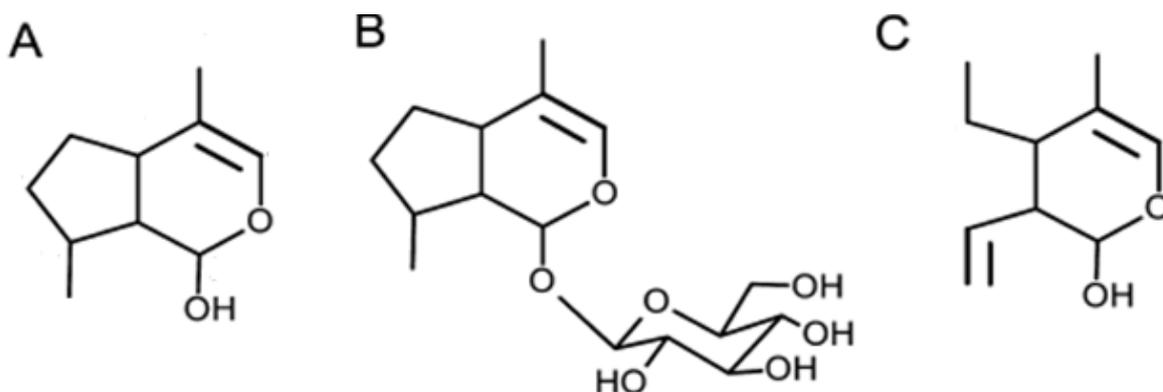
Fuente Fennema (2010)

La vitamina C es considerada como el principal nutriente natural y antioxidante en nuestra dieta diaria y su efecto es anti carcinogénico (Becerra 2011). Esta vitamina desempeña importantes funciones para la nutrición humana, como formación de tejido conjuntivo, producción de hormonas y anticuerpos, biosíntesis de aminoácidos y actividad antioxidante (Medeiros 2013).

Los mecanismos bioquímicos de la vitamina C que participan en el proceso antioxidante que ayudan a prevenir enfermedades como el cáncer están relacionadas con la incorporación del ácido ascórbico en el sistema inhibitor de la hialuronidasa, evitando la diseminación metastasica de los tumores al mantener intacto el tejido peritumoral, potenciando el sistema inmune con el aumento en la producción de linfocitos, en la prevención de la formación de nitrosaminas en el tracto gastrointestinal y en la inhibición del potencial de carcinógenos químicos aumentando la actividad detoxificante del sistema citocromo P450. Esta vitamina es un potente reductor, porque pierde fácilmente átomos de hidrogeno para transformarse en ácido dehidroascorbico que también posee actividad de vitamina C (Valdés 2006).

### 2.2.2 Compuestos iridoides

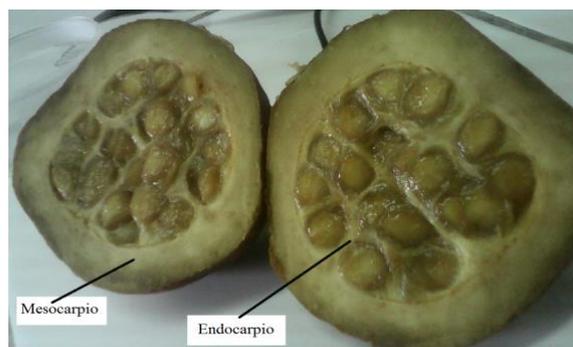
Son una serie de monoterpenos bicíclicos (C<sub>10</sub>) los que derivan biosintéticamente del monoterpeno geraniol, el cual presenta como estructura básica común un ciclopentanopirano denominado iridano, por haberse detectado por primera vez en unas hormigas pertenecientes al género *Iridomyrmex*. Estos compuestos pueden encontrarse como estructuras abiertas (secoiridoides) o cerradas (iridoides) generalmente en forma heterosídica, como glucósidos, tal como se muestra en la Figura 2 (Bentes et al. 2014). Por contener este tipo de compuestos una serie de plantas son empleadas farmacológicamente como las de la familia Apocynaceae, Loganiaceae, Scrophulariaceae, Verbenaceae (Alves 2017 y Rubiaceae (Dussosoy et al. 2011). Un amplio rango de actividades biológicas ha sido asociado con los iridoides como su actividad neuro protectora, cardiovascular, antibacteriana y sedativa (Faria 2019), esto compuestos también pueden usarse como marcadores químico taxonómicos para la clasificación de plantas (Bentes et al. 2014).



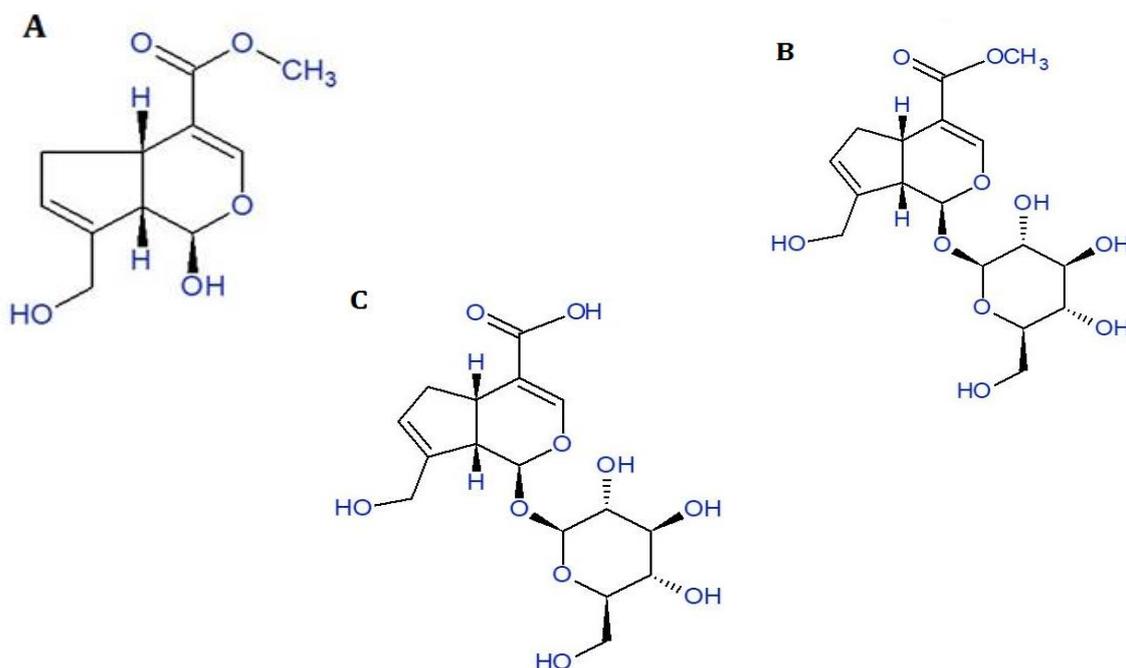
**Figura 2: Estructura básica de los iridoides: (A) simple; (B) glicosilado; (C) secoiridoide.**

Fuente: Bentes et al. (2014).

*Genipa americana* L. se caracteriza por presentar tres iridoides como: genipina, geniposido y ácido geniposídico, tanto en el mesocarpio como en el endocarpio (Figura 3); la Figura 4 muestra las estructuras correspondientes de los respectivos compuestos (Náthia-Neves et al. 2018).



**Figura 3: Vista de las partes internas del fruto de Huito (imagen propia)**



**Figura 4: Iridoides presentes en *Genipa americana* L.: (A) genipina, (B) geniposido y (C) ácido geniposídico**

Fuente: Náthia-Neves et al. (2018)

Bentes *et al.* (2014) realizaron un estudio comparativo entre frutos inmaduros y maduros de *Genipa americana* L., y encontró que en frutos maduros el iridoide de mayor proporción fue la genipin gentibioside el cual estaba alrededor del 38%, además menciona que durante la maduración el contenido de iridoides tienen una disminución en más del 90% lo que explicaría la ausencia del color azul en los frutos maduros; esta genipina posee un amplio espectro de efectos sobre la salud como antiinflamatorio, neuroprotector antidiabético (inhibiendo el estrés oxidativo hepático) y antitrombotico (Neri-Numa et al. 2018). Los otros compuestos detectados en los frutos maduros fueron: ácido geniposídico (con actividad

purgativa), gardenosidos como genipina 1- $\beta$ -D-gentibiosido con propiedades antipromotora de tumores (Ono et al. 2005, mencionado por Faria 2019); geniposido, ácido cafeoylgeniposido, ácido p-coumaroilgeniposido, feruloil gardosido, p-coumaroilgenipina gentiobiosido, feruloilgenipina gentibiosido. Estos compuestos son considerados antimicrobianos como el ácido genípico o genípico. En general estos iridoides presentan función neuroprotectoras, cardiovasculares, antibacterianas, sedativas, entre otros, dichas propiedades hacen que este fruto tenga importancia para la industria alimentaria y farmacéutica (Faria 2019). Las plantas con presencia de glucosidos iridoides presentan propiedades anti-inflamatorias, antioxidantes y hepatoprotectoras (Noiarsa et al. 2008).

Con respecto a la toxicidad de estos iridoides, como el caso de la genipina que ha sido estudiada ampliamente, Lima et al. (2009) mencionan que depende de la dosis y el tiempo, al probarse in vitro, determinó una dosis letal de 2200 $\mu$ M, una dosis no letal de 220  $\mu$ M y una dosis óptima de 22  $\mu$ M.

### **2.2.3 Compuestos polifenólicos**

Estos compuestos presentes en las plantas, tienen en su estructura química un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo, pudiendo así variar de una simple molécula fenólica a un polímero complejo de alto peso molecular (Medeiros 2013). Se conocen cerca de 8000 compuestos fenólicos identificados y estos pueden dividirse en grupos de acuerdo a su estructura química como ácidos fenólicos, estilbenos, cumarinas, lignanos y flavonoides (Becerra et al. 2011). En la naturaleza la síntesis de un núcleo aromático la realizan solo los vegetales y microorganismos; los organismos animales lo reciben en su alimentación para elaborar otros metabolitos que le son indispensables como las vitaminas, aminoácidos, etc. (Bruneton 2001).

#### **2.2.3.1 Clasificación de los compuestos fenólicos**

**Los ácidos fenólicos** de fórmula C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> derivados hidroxilados del ácido benzoico son muy frecuentes tanto libres como combinados al estado de ésteres o de heterósidos, algunos de sus usos y aplicaciones son por sus propiedades antisépticas, antiinflamatorias, algunos heterósidos son considerados compuestos antibacterianos y anti fúngicos frente a organismos Fito patógenos.

**Las cumarinas** deben su denominación a la palabra “coumarou” nombre de la especie de la que fueron extraídas (*Dipteryx odorata* Will.), dentro de sus aplicaciones están como protector vascular, algunas se utilizan contra la soriasis porque tienen la propiedad de ser fotosensibles. Algunas otras se utilizan contra cánceres avanzados.

**Los lignanos** son aquellos compuestos cuyo esqueleto resulta del establecimiento de una unión entre los carbonos  $\beta$  de las cadenas laterales de dos unidades derivadas del 1-fenilpropano. Dentro de las aplicaciones para este tipo de compuestos se le ha determinado propiedades antibacterianas y antifúngicas.

**Los flavonoides** son los pigmentos casi universales y más importantes en la actualidad. Responsables de la coloración de las flores, frutos y a veces hojas. Todas estas moléculas poseen un mismo origen biosintético común, y por tal un mismo elemento estructural básico puede dar origen a una docena de clases según el grado de oxidación del núcleo piránico central. La principal actividad atribuida a estos compuestos es la de ser “venoactivos” son capaces de disminuir la permeabilidad de los capilares sanguíneos y aumentar su resistencia.

Otra de las funciones importantes de los flavonoides según Escamilla et al. (2009), son sus funciones antioxidantes que resulta de una combinación de sus propiedades quelantes de hierro y sequestradoras de radicales libres, además de la inhibición de las enzimas oxidasas, lipooxigenasa, ciclooxigenasa, mieloperoxidasa y la xantina oxidasa evitando así la formación de especies reactivas de oxígeno y de hidroperóxidos orgánicos.

### **2.3. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE**

Los radicales libres son átomos, moléculas o iones altamente inestables debido a su estructura atómica o molecular, a medida que posean electrones desapareados, estos tipos de compuestos presentan grandes tendencias para capturar un electrón de otra especie química para recuperar su estabilidad (Avello et al. 2006). En este proceso una molécula vecina se vuelve un radical libre, provocando una reacción en cadena que en este caso de no ser interrumpida puede provocar alteraciones celulares asociadas a patologías (Rodríguez 2011), como el cáncer, artritis reumatoidea, los procesos degenerativos asociados con el envejecimiento incluyendo las enfermedades del Parkinson y Alzheimer. La vida media biológica del radical libre es de microsegundos, pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que este a su alrededor provocando un gran daño a moléculas, membranas celulares

y tejidos (Avello et al. 2006). Un radical libre puede afectar a un millón de moléculas durante la reacción en cadena.

Durante el metabolismo humano se liberan radicales libres y nuestro organismo tiene la capacidad de contrarrestar la producción de estos radicales para mantener el equilibrio homeostático (Coronado et al. 2015), pero también se producen radicales libres por los contaminantes ambientales (radiación ultravioleta, atmosféricos, de suelos, etc.), el problema para la salud se produce cuando nuestro organismo tiene que soportar un exceso de radicales libres durante años, y cuando sobrepasa las defensas antioxidantes de las células se produce el estrés oxidativo (Avello et al. 2006).

Muchos estudios epidemiológicos sugieren que el consumo de antioxidantes naturales como los alimentos ricos en polifenoles, frutas frescas y vegetales tienen efectos protectores y su protección se ha atribuido en parte debido a la presencia de varios componentes como las vitaminas, flavonoides, antocianinas y otros compuestos polifenólicos incluyendo los minerales (Becerra et al. 2011). Por tanto, se puede definir un antioxidante como una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres mediante la liberación de electrones en nuestra sangre, los que son captados por los radicales libres (Avello et al. 2006).

### **2.3.1 Mecanismos de reacción de los antioxidantes**

Según Arias y Rueda (2016), clasifican a los antioxidantes por su mecanismo de acción en:

#### **A. Antioxidantes primarios**

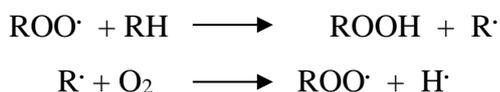
Son radicales libres que limitan o inhiben la fase inicial y en el mejor de los casos interrumpen la etapa de propagación de la autooxidación, ocurre cuando las moléculas de hidrógenos son separados de una molécula, para formar un radical ( $R\cdot$ ).



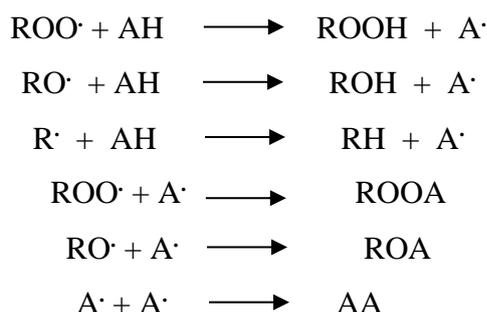
El radical  $R\cdot$  reacciona con el oxígeno rápidamente, formando un radical peróxido en una reacción de propagación:



Durante este proceso, los radicales peróxidos reaccionan con otra molécula para formar un hidroperóxido y un nuevo radical inestable y este nuevo radical reaccionara con el oxígeno produciendo otro radical peróxido, resultando así un mecanismo de oxidación localizado cíclico dado por la reacción siguiente:



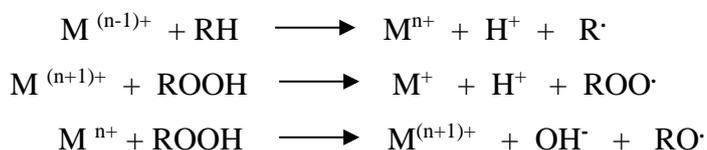
Estos hidroperóxidos son inestables y se descomponen produciendo radicales y aceleran la reacción de propagación. La acción de los antioxidantes primarios es donar un átomo de hidrogeno de su molécula a los radicales peróxidos y oxido, generando así un radical antioxidante más estable y menos reactivo, el que se estabiliza al unirse a los radicales peróxidos, óxidos y antioxidantes que presentan un radical libre.



## B. Antioxidantes secundarios

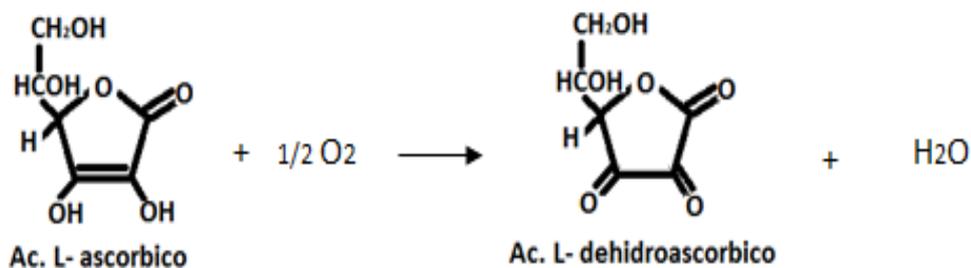
Reducen la velocidad de oxidación sin generar la estabilidad de los radicales, pueden quelar metales prooxidantes y desactivarlos, reponer hidrógenos de los antioxidantes primarios, descomponer hidroperóxidos a radicales, desactivar el radical oxígeno y absorber radiación UV. Podemos nombrar a:

- **Quelatos:** como los metales pesados y de transición que promueven la oxidación actuando como catalizadores, estos cambian su estado de oxidación para interactuar con hidroperóxidos o con lípidos insaturados generando radicales libres según:



Estos quelatos interactúan con los metales y los oxidan, estabilizándolos y reduciendo de esta manera su potencial oxidativo.

- **Eliminadores de oxígenos y agentes reductores:** la producción de moléculas de oxígenos reactivos, durante el proceso de crecimiento celular, como los radicales aniónico superóxido ( $O_2^-$ ) y el radical hidroxilo ( $OH^\cdot$ ), moléculas que no son radicales libres como el peróxido de hidrogeno y oxígenos singletes ( $^1O_2$ ), este tipo de moléculas son oxidadas y estabilizadas por la acción de los antioxidantes como el ácido L- ascórbico, como se aprecia en la figura 5.



**Figura 5.** Representación de la reacción de estabilización de un radical por un antioxidante

**Fuente:** Arias y Rueda (2016).

### 2.3.2. Métodos

La Capacidad antioxidante de las frutas varía dependiendo del contenido de vitamina C, vitamina E, carotenoides, flavonoides y otros polifenoles (Contreras-Calderón et al. 2011). Existen muchos métodos para medir la capacidad de neutralización de estos radicales libres, como los que se definen a continuación.

**Método del DPPH:** Este método involucra los mecanismos de transferencia de electrones y de átomos de hidrogeno; este método se fundamenta en la capacidad de los antioxidantes en reducir al 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH), de color violeta a amarillo; el grado de reducción del radical es medido espectrofotométricamente a una longitud de onda de 517 nm (Medeiros 2013). Esta actividad antioxidante es expresada como  $EC_{50}$ , cantidad de antioxidante necesaria para reducir al 50% la concentración inicial del DPPH (Rezende

2010). Este método es considerado uno de los más simples, precisos y reproducibles, muy utilizados para frutas, extractos de plantas y sustancias puras (Medeiros 2013).

**Método ABTS:** o también llamado capacidad antioxidante para Trolox (TEAC), involucra el mismo mecanismo de reacción que el de DPPH, y consiste en la capacidad de los antioxidantes en eliminar el radical  $ABTS^+$  que tienen su absorbancia reducida a medida que reacciona con los antioxidantes. Este método puede ser aplicado para liposolubles e hidrosolubles, sobre una forma de compuestos puros o muestras de alimentos. A pesar de que el radical  $ABTS^+$  no es tan estable comparado al radical DPPH, la simplicidad y rapidez del método tiene mucho interés entre los investigadores (Medeiros 2013).

**Método FRAP:** o capacidad de reducción del ion férrico, se basa en el mecanismo de transferencia de electrones y evalúa la capacidad de los antioxidantes en reducir el complejo ferritripiridiltriazina ( $Fe^{3+}$ - TPTZ) (2,4,6 – tri (2-piridil) - 1,3,5 - triazina) a ferroso – tripiridiltriazina ( $Fe^{2+}$ -TPTZ), en pH ácido. El complejo  $Fe^{2+}$ -TPTZ tiene un color azul intenso y puede ser monitoreado por espectrofotómetro a 595 nm. Este método es económico, el procedimiento es directo no requiere de equipamientos especializados y los resultados son reproducibles (Medeiros 2013).

**Método ORAC:** este método evalúa la capacidad de absorción de radical oxígeno, el cual consiste en el mecanismo de transferencia de radicales hidrogeno. Inicialmente los radicales piróxilos son formados a partir de diclorato de 2,2-´azobis (2-amidinopropano) (AAPH) y en seguida esos radicales interactúan con la fluorescencia formando un producto no fluorescente, que puede ser determinado por espectrofotometría. Sin embargo, las sustancias antioxidantes pueden reaccionar con los radicales piróxilos por la transferencia de hidrogeno, retardando la perdida de fluorescencia. La capacidad antioxidante de una sustancia es medida por la disminución de la fluorescencia. Los resultados del método ORAC posee una mayor relevancia para sistemas biológicos por el hecho de que el radical piróxilo es comúnmente encontrado en estos sistemas. Este método es indicado para antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos (Medeiros 2013).

### 2.3.3 Factores que influyen sobre los antioxidantes

Los compuestos antioxidantes al ser muy sensibles sufren degradaciones muy fácilmente como: en el caso de la vitamina C, considerado un potente reductor, pierde con facilidad átomos de hidrogeno y se transforma en ácido dehidroascorbico, que también posee actividad vitamínica, sin embargo se pierde cuando el anillo lactónico del ácido dehidroascorbico se hidroliza para dar ácido 2,3-dicetogulónico que posteriormente puede degradarse por descarboxilación, ni el ácido formado ni sus derivados de la degradación tienen acción vitamínica. Este ácido también es muy sensible a la oxidación, cuando ésta es catalizada por iones metálicos, como el cobre y hierro, así como también frente a la luz y el calor que aceleran el proceso; se tiene otros factores como el pH, la concentración de oxígeno y la actividad del agua (Fennema *et al.* 2010).

Reyes (2014) menciona que los polifenoles son compuestos ácidos debido a la naturaleza del grupo fenólico y del grupo carboxílico, la mayor estabilidad de los polifenoles está a un pH menor a 5. Con respecto a la temperatura las de refrigeración los mantienen más estables que las ambientales ya que siempre habrá reacciones entre proteínas y polifenoles, sin embargo a bajas temperaturas las moléculas poseen movimientos más lentos por lo que estas reacciones tardarán más en suceder, debido a este comportamiento se asume que la mayor pérdida de polifenoles se da con la unión de estos con las proteínas, las que pueden precipitar debido a cambios de pH de la solución, reduciendo así el grupo OH de los polifenoles.

El pardeamiento de frutas y vegetales según Busso (2016), está asociado a la reacción de oxidación de los compuestos fenólicos hacia la formación de quinonas responsables de pigmentos amarillos y marrones, catalizadas por la enzima polifenol – oxidasa produciendo pardeamiento enzimático. Menciona además que la estabilidad de los polifenoles totales podría asociarse a la formación de compuestos de condensación o polímeros formados que contribuyen al contenido total de polifenoles y la capacidad antioxidante por lo que el nivel residual de estos parámetros suele ser relativamente alto lo que produciría que el reactivo de Folin siga detectándolos, este fenómeno podría explicar la estabilización de los polifenoles totales durante el almacenamiento.

Los tratamientos térmicos como la pasteurización los que involucran temperaturas inferiores a 100°C para productos de naturaleza ácida (Busso 2016), estas temperaturas provocan un

aumento de la velocidad de degradación de los compuestos bioactivo, sin embargo, los polifenoles totales presentan estabilidad durante los procesos térmicos.

## **2.4 ZUMO DE FRUTAS**

### **2.4.1 Definición**

Según el CODEX (2005), define zumo de frutas o jugo al líquido sin fermentar, pero fermentable, que se obtiene de la parte comestible de frutas en buen estado, debidamente maduras y frescas o frutas que se han mantenido en buen estado por procedimientos adecuados, inclusive por tratamientos de superficie aplicados después de la cosecha de conformidad con las disposiciones pertinentes de la Comisión del Codex Alimentarius. También textualmente menciona: "...Los zumos (jugos) se preparan mediante procedimientos adecuados que mantienen las características físicas, químicas, organolépticas y nutricionales esenciales de los zumos (jugos) de la fruta de que proceden...y exprimido directamente por procedimientos de extracción mecánica"

### **2.4.2 características físico y químicas para la obtención de zumos de fruta**

Dentro de las características físicas y químicas que deberían cumplir los zumos de frutas, según el CODEX (2005), son los siguientes:

- En cuanto a su composición: el valor de °Brix (sólidos solubles) deberá ser la misma al de la fruta de la cual se está obteniendo el zumo.
- Características organolépticas: los zumos (jugos) y néctares de frutas deberán tener el color, aroma y sabor característicos del zumo (jugo) del mismo tipo de fruta de la que proceden. La fruta no deberá retener más agua como resultado de su lavado, tratamiento con vapor u otras operaciones preparatorias que la que sea tecnológicamente inevitable.
- En cuanto a su autenticidad: es el mantenimiento en el producto de las características físicas, químicas, organolépticas y nutricionales esenciales de la fruta o frutas de que proceden.

## **2.5 PASTEURIZACIÓN**

La conservación de los alimentos a través de la inactivación bacteriana data de hace miles de años, existen métodos que con el paso del tiempo se han ido comprendiendo y

perfeccionado, y fue así que desde el siglo pasado lograron controlar todas las variables que influyen en la inactivación microbiana y se puede garantizar la inocuidad de los alimentos procesados desde la perspectiva científica.

En el caso de la elaboración de bebidas Villareal *et al.* (2013) menciona que el principal desafío es preservar sus nutrientes y hacerlo atractivo desde el punto de vista sensorial y para lograrlo están los tratamientos térmicos que son los métodos más utilizados para estabilizar productos porque tienen la capacidad de destruir microorganismos e inactivar enzimas y dentro de estos tratamientos el más utilizado es la pasteurización.

Según Elías *et al.* (2014), la pasteurización es un tratamiento térmico aplicado a alimentos líquidos, con el objetivo de reducir y en algunos casos destruir (Villareal *et al.* 2013), a los microorganismos patógenos vegetativos (no esporulados) para que este sea inocuo y alargue su vida útil, de manera adicional se conseguirá inactivar enzimas evitando así las reacciones de pardeamiento y otras reacciones de deterioro. Así mismo menciona que la pasteurización tiene objetivos diferentes dependiendo del alimento al que se le aplique:

- En alimentos poco ácidos; cuando el  $\text{pH} > 4,6$  cuando se requiere bajar la carga microbiana y la destrucción de patógenos, manteniendo las características organolépticas, en el caso de la leche.
- En alimentos ácidos:  $\text{pH} < 4,6$  aplicado especialmente a zumos de frutos, el objetivo está enfocado en mantener sus cualidades organolépticas. Los alimentos ácidos están protegidos por su propia acidez por lo que no son necesarias temperaturas mayores ya que no es posible bacterias esporuladas.

Para alimentos ácidos no se requiere la aplicación de tratamientos de pasteurización muy severos, salvo algunas excepciones. La elección del tiempo y temperatura del tratamiento térmico está condicionada a la preservación de la composición inicial del alimento, como en el caso de los zumos de frutas impedir la destrucción de las vitaminas, evitando los sabores a cocidos. Generalmente se puede elegir entre dos grandes sistemas de pasteurización como:

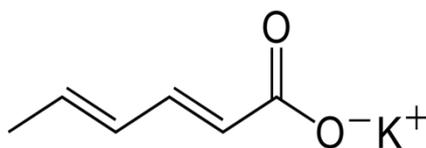
- a) Pasteurización a baja temperatura y largo tiempo, para lograr la inactivación del bacilo de Koch como en el caso de la leche.

b) Pasteurización a alta temperatura y corto tiempo, aplicado en zumos de frutas que aproximadamente estaría dentro de los 77 a 92 °C por un tiempo de 15 a 60 s, lográndose que las propiedades de los productos se vean poco afectados por el tiempo corto de permanencia, aunque las temperaturas sean altas.

## 2.6 SORBATO DE POTASIO

Otra forma de conservación de alimentos es el uso de aditivos como los conservadores químicos donde su función principal es de inhibir la reproducción, el crecimiento y, por lo tanto, la actividad de los microorganismos (Schmidt-Hebbel 1990).

Los sorbatos se utilizan muy ampliamente, en una concentración menor del 0.03 % en peso para inhibir el crecimiento de hongos y levaduras en los alimentos, pero también es utilizado en derivados cárnicos y quesos, bebidas refrescantes, mermeladas, zumos de frutas y otros productos. El pH debe ser inferior a 6,5 aumentando la efectividad a medida que el pH disminuye (Bautista 2013). Para alimentos de pH mayores a 4,5 se le agrega ácidos orgánicos para bajar el pH, permitiendo la esterilización en condiciones térmicas menos intensas, evitando así el crecimiento de microorganismos patógenos (Fennema et al. 2010). La toxicidad de los sorbatos es baja, porque se metaboliza como el resto de ácidos grasos y la ventaja es que no proporciona olores ni sabores extraños a los alimentos, su solubilidad es baja (0.16 g/100 mL a 20° C) es mejor utilizar sus sales que son más solubles, su estructura se muestra en la Figura 5. El sorbato de potasio, es el más usado porque en diferentes alimentos y en distintas condiciones, demostrándose que controla el crecimiento de Salmonella, Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus, Clostridium botulinum y otros a excepción de las bacterias lácticas (Aroca 2010).



**Figura 6: Estructura del sorbato de potasio**

## **III.MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN**

La investigación se realizó en el Laboratorio de Pulpa y Papel del Área de Transformación Química de la Madera de la Facultad de Ciencias Forestales y en la Planta Piloto de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias.

### **3.2. OBTENCION DE LA MATERIA PRIMA**

Los frutos de huito se colectaron en el Fundo Caña Brava. Caserío Leoncio Prado distrito de Yarinacocha, ciudad de Pucallpa. Se obtuvo aproximadamente 200 kilos de fruto maduro. Los que fueron empacados en cajas de madera para evitar daños físicos y luego se transportaron hasta la ciudad de Lima.

### **3.3. MATERIALES UTILIZADOS**

- Olla de acero inoxidable de 10 L
- cuchillo
- paños absorbentes para limpieza
- baldes de 20 L
- bolsas plásticas grandes
- cucharones de madera
- jarras de 1L de acero inoxidable
- Termómetro escala de 0 – 120°C marca ISOLAB 76 mm
- Cronometro
- Utensílios (tinas, tazones, etc.).
- Frascos de vidrio con tapa rosca de 300 y 500 mL
- Tabla para picar
- Bandejas de acero inoxidable

- Pipeteador automático

### 3.4. EQUIPOS

- Refinadora con tornillo sin fin Marca Brown, motor con motoreductor 2HP. USA.
- Triturador marca Rietz. Modelo RP-8 115 serial N° RP-710073. Motor 7.5 HP. Santa Rosa, California. West Chester, Pennsylvania.
- Balanza de 30 Kg (0.01g de precisión) marca ERICSON TCS-A2
- Agitador magnético
- Plancha de arena s/m
- Equipo de Digestión y destilación micro Kjeldahl
- Espectrofotómetro marca  $\gamma$ -gamma
- Refrigeradora marca Myray MRF-200
- Estufa de 0 a 105 °C marca Heraerus modelo KT-500
- Balanza analítica electrónica (precisión 0,1 mg) marca OHAUS, modelo AP-210-0
- pHmeter. Marca Hanna modelo H10798
- Selladora al vacío marca Sinbo
- Colorímetro Lobibond LC 100
- Rota vapor marca Buchi R-3000
- Refractómetro Hand-Held marca ATAGO N-20E, escala de 0-20 %
- Vernier digital marca Vogel
- Penetrometro marca Force Gauge PCE-FM200 com pistom de 7mm.
- Cromatógrafo UHPLC- DAD system, Thermo Fisher Scientific Dionex Ultimate 3000
- Equipo Espectrofotómetro de Emisión atómica acoplado Inductivamente (ICP)

### 3.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS

Se muestreó aproximadamente 50 kilos de frutos para su caracterización en base a las siguientes evaluaciones:

#### 3.5.1 Físicoquímicos

**a) Peso de los frutos:** Se siguieron las recomendaciones de Málaga *et al.* (2013). A los frutos muestreados se los peso en una balanza analítica de precisión para registrar el peso de cada uno de ellos.

**b) Diámetro y longitud** Para la medida se usó un vernier digital y para el procedimiento se siguieron las recomendaciones de Neta (2014).

**c) Color del fruto:** Se evaluó la coloración del fruto externo e interno con el uso de un colorímetro marca Lobibond; siguiendo las recomendaciones de Neta (2014).

**d) Humedad:** Siguiendo el método N° 934.06 (AOAC 2005).

**e) pH:** Según el método N° 981.12 (AOAC 2005)

**f) °Brix:** De acuerdo al método N° 931.12 (AOAC 2005).

**g) Proteína:** se siguió la metodología N° 930.52 (AOAC 2005)

**h) Grasa:** se siguió metodología N° 930.09 (AOAC 2005)

**i) Fibra:** se siguió metodología N° 962.09 (AOAC 2005)

**j) Carbohidratos:** por diferencia de los otros compuestos determinados: Recomendado por Muñoz (2009).

$$\% \text{carbohidratos} = 100 - (\% \text{proteínas} + \% \text{grasa} + \% \text{fibra} + \% \text{cenizas} + \% \text{humedad})$$

**k) Cenizas:** según metodología N° 940.26 (AOAC 2005)

**l) Acidez (%):** se siguió la metodología N° 942.15, valoración potenciométrica como acidez total (AOAC 2005).

**m) Vitamina C (mg/100g):** según método yodométrico usado por Hernández (2003) y Ruiz (2011). Anexo 1 (A).

**n) Polifenoles totales:** Según metodología utilizada por Romero (2014). Descripción del fundamento y procedimiento en el Anexo 1 (B).

**o) Capacidad antioxidante (µmol/g).** método ABTS, método descrito por Rojas (2013).

**p) Determinación del contenido de Genipina y ácido Geniposídico:** por cromatografía de alta resolución, usada por Chen et al. (2008). Detalle del procedimiento en el Anexo 2.

**q) Determinación azúcares reductores:** mediante el método de Lane y Eynon (Pearson 1976) Anexo 1 (C).

**r) Determinación de minerales:** EPA. Method 200.7. 1994. Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometric Method for trace Element Analysis of water and wastes.

**3.5.2. Microbiológicos:** se siguió el método la International Commission on Microbiological Specifications for Foods (2000), para realizar los siguientes controles:

- Numeración de aerobios termófilos
- Recuento de mohos y levaduras
- Recuento de coliformes totales

- Recuento de coliformes fecales
- Aerobios mesófilos viables

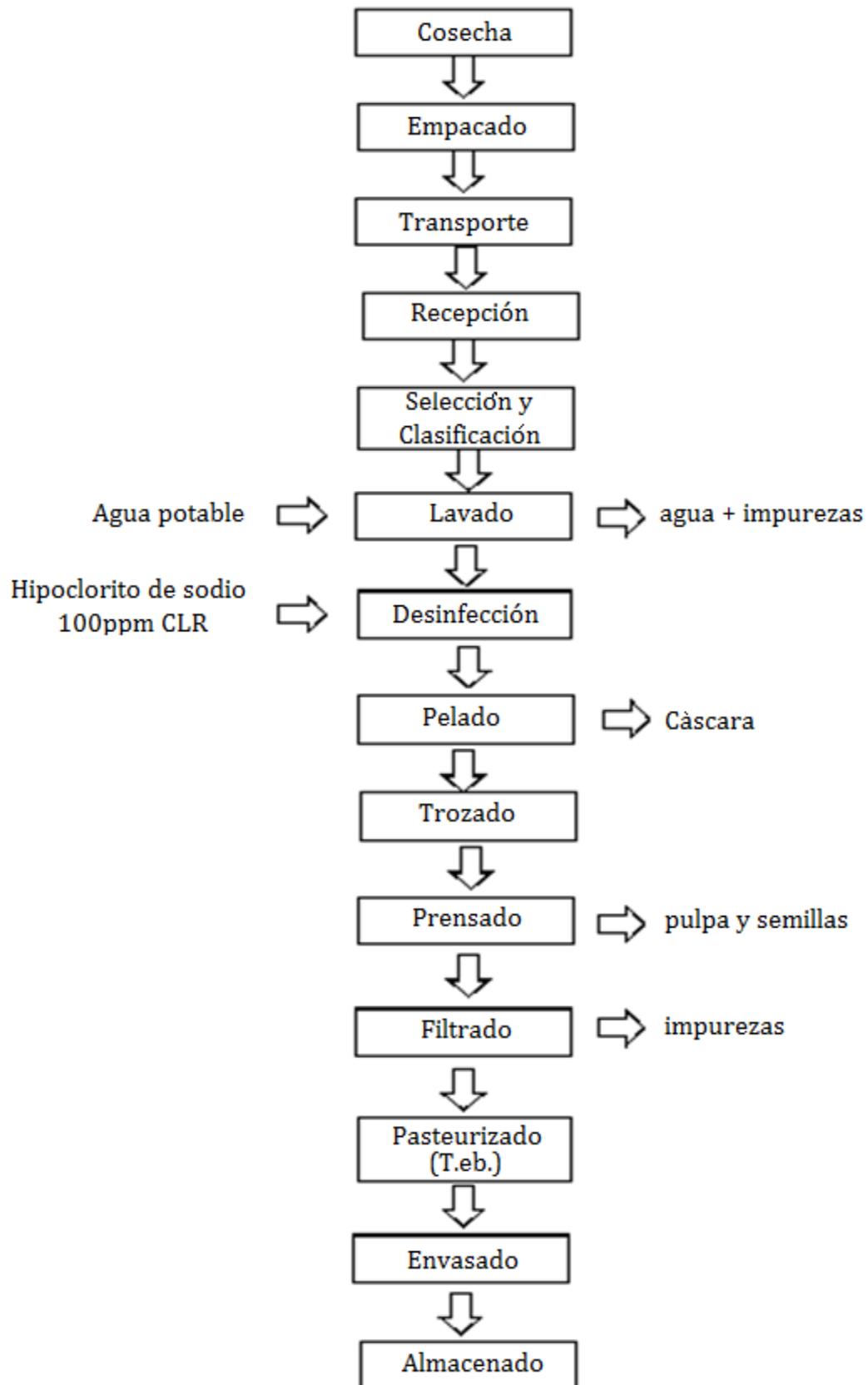
### **3.5.3. Análisis estadístico**

La prueba utilizada para la presente investigación fue la Prueba Controlada Aleatorizada (RCT) con el fin de evaluar el efecto del proceso y/o tratamiento sobre el grupo de muestras que lo recibió respecto al que no lo recibió. Para ello se utilizó el programa R v.3.5.2. (R Core Team 2018. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R. Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>). Se trabajó con un nivel de significancia del 5 por ciento, realizándose cinco repeticiones en cada una de los grupos de ensayos, determinando los promedios y su desviación estándar. Para los efectos de los tratamientos (conservante y pasteurización) sobre los compuestos bioactivos y su interacción se realizó análisis de varianza (ANOVA); las diferencias significativas encontradas fueron analizadas con la prueba de rango múltiple de Tukey, el cual permitió obtener datos de probabilidad de aceptación o rechazo de la hipótesis, basado en las recomendaciones de Tarozzi (s/f).

## **3.6. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL**

### **A. Flujo de operaciones**

En la Figura 6 se muestra el flujo de operaciones seguido para la obtención del zumo de huito (*Genipa americana* L.), el cual se describe a continuación:



**Figura 7: Flujo de operaciones para la obtención del zumo de huito**

Descripción de las operaciones:

- **Cosecha, empacado y transporte:** el fruto de huito fue cosechado teniendo en cuenta el color, como indicativo de su madurez subjetiva, cuando este llega a amarillo amarronado, es indicativo que llegó a su madurez de consumo, entonces fueron cosechados y acondicionados en cajas de madera de 20 kg de capacidad aproximadamente, siendo transportados desde la ciudad de Pucallpa a Lima.
- **Recepción, selección y clasificación:** los frutos fueron recibidos en el laboratorio donde se controló los pesos y se realizó una inspección general a fin de verificar el estado físico en que llegaron, luego se seleccionaron separando los frutos con daño físico y clasificados por su estado de madurez, trabajando con los que reportaron en promedio 16 de °Brix.
- **Lavado:** Los frutos se lavaron manualmente con agua potable con el fin de eliminar residuos sólidos y otras impurezas.
- **Desinfectado:** los frutos lavados se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio de 100 ppm de Cloro Libre Residual (CLR) por aproximadamente 5 minutos con la finalidad de reducir la carga microbiana.
- **Pelado:** posteriormente los frutos fueron pelados manualmente con el uso de un cuchillo de acero inoxidable.
- **Trozado:** Luego fueron cortados en trozos de un centímetro aproximadamente en una tabla de picar, con el fin de facilitar el prensado. Cabe mencionar que todos los utensilios utilizados y equipos fueron desinfectados con solución de hipoclorito de sodio de concentración 100 ppm.
- **Prensado:** Se procedió a extraer el zumo del fruto picado en una prensa continua de acero inoxidable marca Brown, el cual está provisto de un tornillo sin fin el que se encarga de llenar la cámara de compresión con el fin de estrujar al fruto y se libere el zumo.
- **Filtrado:** Se realizó con una tela de algodón para eliminar impurezas y partículas que se generaron durante el proceso de prensado.
- **Pasteurización:** esta operación se realizó en una olla de acero inoxidable, colocándose el zumo a pasteurizar hasta su temperatura de ebullición y se mantuvo a esa temperatura por 30s, el objetivo fue inactivar carga microbiana y asegurar la conservación del producto.
- **Envasado:** Posteriormente el zumo pasteurizado se envaso en botellas de vidrio de 300 mL, luego fueron enfriados inmediatamente sumergiéndolos en agua fría para lograr un

sellado al vacío; el objetivo es aislar al producto de medio ambiente para evitar su recontaminación.

- **Almacenado:** el producto obtenido se rotulo y almaceno a temperatura ambiente (20 °C), en un espacio limpio y seco, hasta su análisis y evaluación.

## **B. Esquema experimental.**

A continuación, se describen las evaluaciones que se han realizado en cada una de las etapas del procesamiento del zumo y en la Figura 7 se muestra el esquema experimental para su obtención.

### **B.1 Evaluaciones realizadas en materia prima.**

- Análisis físicos. El fruto de huito fue sometido a los siguientes análisis: peso de fruto (g), ancho (cm) y largo (cm), firmeza (Kg), color (L, a\* y b\*).
- Análisis físico químicos: Humedad, grasa, proteína, contenido mineral, carbohidratos, °Brix, acidez (g/100g) expresada como ácido cítrico y pH.
- Compuestos bioactivos: Vitamina C, polifenolicos totales, contenido de genipina y ácido geniposidico.
- Capacidad antioxidante

### **B.2 Evaluaciones en zumo extraído**

- Balance de masa. Se realizó con la finalidad de determinar el rendimiento, para ello se consideró al fruto entero como cien por ciento y en cada operación unitaria se fue descontando al rendimiento las pérdidas que se generaban en el procesamiento. Las evaluaciones realizadas fueron:
  - Compuestos bioactivos: vitamina C, polifenoles totales, contenido de genipina y ácido geniposidico.
  - Capacidad antioxidante (método ABTS)

### **B.3 Acondicionamiento y pasteurización.**

El zumo de huito fue sometido a 4 tratamientos:

1. Sin conservador químico y sin pasteurizar.
2. Con conservador químico y sin pasteuriza.

3. Sin conservador químico y pasteurizado.
4. Con conservador químico y pasteurizado.

La finalidad fue determinar el efecto barrera del calor y del conservador químico en la inactivación de la carga microbiana, por un lado, y por otro determinar si los componentes del huito inactivan carga microbiana, sin necesidad de someterlo a las barreras antes indicadas. Para tal efecto se almacenaron las muestras de zumo a temperatura ambiente (20°C), realizando un control microbiológico al inicio (tiempo cero), 15 y 30 días; se evaluaron: mohos, levaduras, coliformes totales, microorganismos aerobios mesófilos viables. expresados como UFC/mL; en los cuatro tratamientos.

#### **B4. evaluación de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante.**

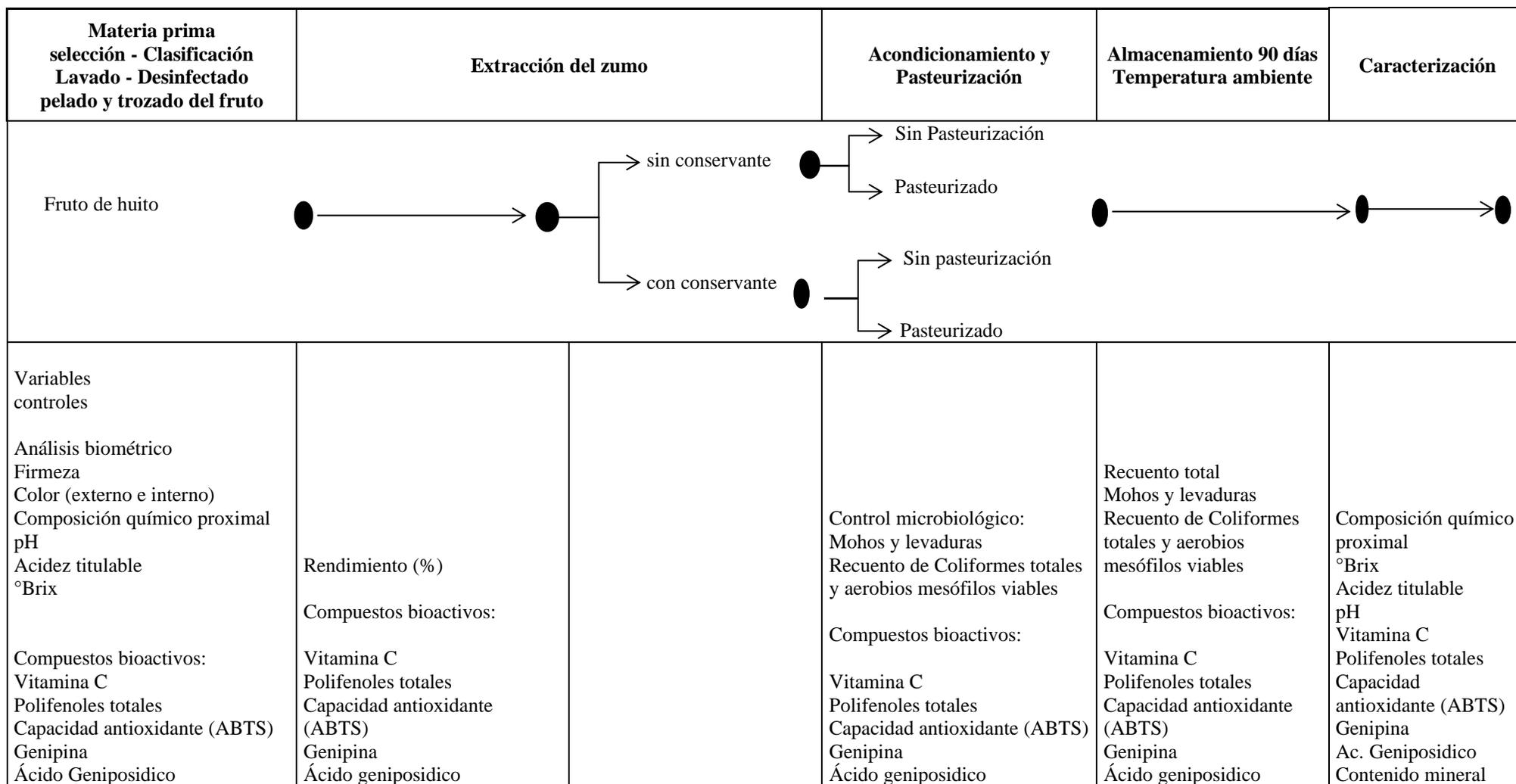
A cada tratamiento se le evaluó en: vitamina C, polifenoles totales, capacidad antioxidante (ABTS), contenido de genipina y ácido geniposídico, cuyo objetivo fue determinar el efecto del proceso en la estabilidad de estos componentes.

#### **B.5 Almacenamiento.**

La mejor muestra seleccionada en el punto **B3** fue almacenada por 90 días, con la finalidad de determinar su estabilidad del zumo en el tiempo. Se realizó un control microbiológico a los 75 y 90 días de almacenamiento, de aerobios termófilos, mohos y levaduras, coliformes totales, coliformes fecales y microorganismos aerobios mesófilos viables.

#### **B.6 Caracterización del producto final**

Concluido el almacenaje, el zumo obtenido fue evaluado en su composición química, pH, acidez titulable, Brix, contenido mineral (calcio, fósforo, hierro, magnesio, potasio, sodio, zinc, boro y óxido de silicio), vitamina C, polifenoles totales, capacidad antioxidante (ABTS), genipina y ácido geniposídico.



**Figura 8: Esquema experimental para obtener el zumo de huito (*Genipa americana L.*)**

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 CARACTERIZACIÓN DEL FRUTO DE HUITO

En la Figura 8 se observa que los frutos de huito tienen diferentes formas, ovaladas, globulares o redondas. En esta investigación se trabajó con todas ellas, tal como se muestra en la Figura 8c. Al respecto Souza (2007), menciona que el fruto adopta diferentes características físicas externas debido a las condiciones edafoclimáticas y genética de cada planta. En el Cuadro 3 se presenta los resultados obtenidos de las características físicas del fruto.



**Figura 9: Frutos de huito: (A) y (B) frutos de Bahía- Brasil (Souza, 2007); (C) Frutos en estudio, origen Pucallpa – Perú.**

**Cuadro 3: Características físicas del fruto in natura de huito.**

<b>Parámetro</b>	<b>Fruto <i>in natura</i></b>
Peso fruto (g)	249,38±31,56
Ancho (cm)	7,62±3,77
Largo (cm)	9,28±5,69
Firmeza (Kg)	4,17±0,48
<b>Color de la cascara (cielab):</b>	
L	41,56±3,35
a*	14,48±2,23
b*	26,20±4,74

Se determinó un peso promedio de 249,38 gramos, valor menor al reportado por Hamacek (2013), pero mayor al encontrado por Lárez et al (2014) y Bentes (2014). Las dimensiones promedio halladas fueron 7,62 y 9,28 cm para el ancho y largo respectivamente, resultados cercanos a los descritos por Bentes et al. (2014) y Souza (2007). Navarro et al. (2018) manifiestan que el tamaño del fruto varía acorde con los diferentes hábitats e influenciado por las condiciones climáticas.

El color de la cascara del fruto de huito, de acuerdo al método cielab es predominantemente amarillo opaco, valores similares fueron medidos por Neri-Numa et al. (2019) y Bentes et al. (2014).

En el Cuadro 4 se muestra la composición química de la pulpa del fruto, observamos de acuerdo a las coordenadas de color es amarillo grisáceo. Su humedad no es alta, ubicándose como alimento de humedad baja en comparación a otras frutas y hortalizas (Fennema et al. 2010), el fruto es turgente lo que coincide con la proporción elevada de la pulpa; tiene un considerable valor en carbohidratos de 13,49; proteínas 4,08 y ceniza de 4,22 por ciento. Es ácida con un pH de 3,33; una acidez titulable de 1,58 g/100g expresado como ácido cítrico y un significativo contenido de sólidos solubles 16.10%; en general los valores difieren a los reportados por otros autores; entre ellos Souza et al. (2012) y Morton (1987) que presentan contenidos de 0,21 y 5,2 por ciento de proteína; Granados (2013), Hamacek et al. (2013), Souza et al. (2012) y Pacheco et al. (2014) indican 0,5; 0,74; 0,39 y 3,6 por ciento de cenizas, respectivamente.

**Cuadro 4: Composición química proximal de la pulpa de huito**

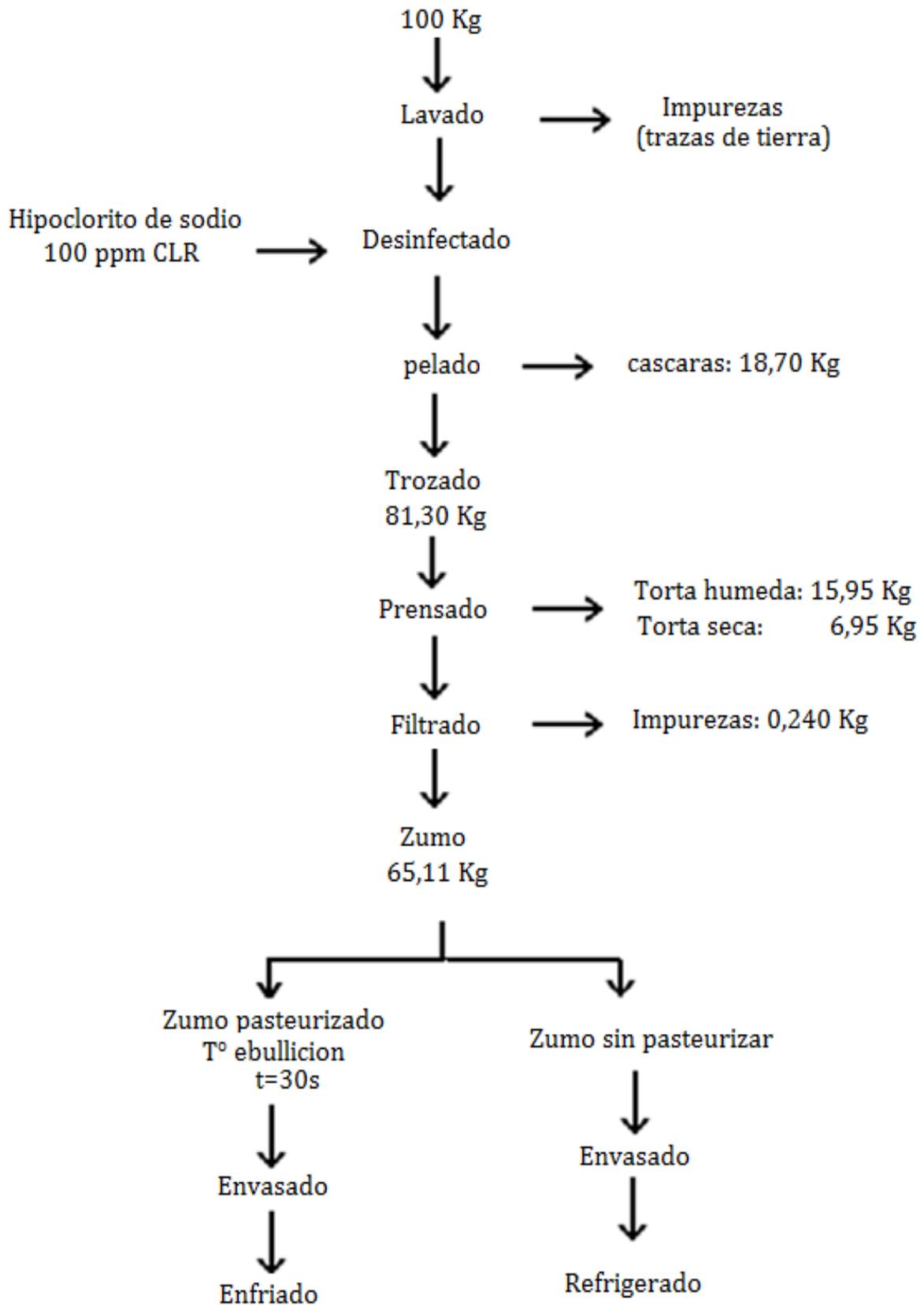
<b>Parámetro</b>	<b>Cantidad</b>
<b>Partes del fruto:</b>	
Cascara (%)	13,93±0,75
Pulpa (%)	59,08±3,86
Semillas (%)	25,85±3,76
<b>Color de la pulpa (cielab):</b>	
L	62,90±3,57
a*	5,34±1,16
b*	25,80±3,20
<b>Características:</b>	
pH	3,33 ± 0,58
Brix	16,10 ± 1,67
Acidez (g/100g) (como Ac. Cítrico)	1,58 ± 0,41
Humedad (%)	76,45 ± 0,47
Grasa (%)	0,37± 0,03
Proteína (%)	3,74 ± 0,15
Cenizas (%)	3,62 ± 0,01
Fibra (%)	1,33 ± 0,19
Carbohidratos (%)	13,49 ±0,64

Elaboración propia

El contenido de nutrientes de un fruto depende de la especie, labores culturales y labores ambientales (Pantástico 1975), asimismo Coronado et al. (2015) indican que el contenido de nutrientes que presenta un fruto está en función de los aspectos físicos, químicos y biológicos como la especie, estado de madurez, pre cosecha y post cosecha.

## **4.2 OBTENCIÓN DEL ZUMO**

En la Figura 9 se presenta el balance de masa de la obtención del zumo de huito. Se obtuvo 65,11 por ciento de rendimiento, atribuido a que la pulpa fue trozada y prensada con semillas, este valor está por encima de los rendimientos obtenidos para naranja 54 por ciento, mandarina 45 por ciento y pomelo 41 por ciento (Rojas et al. 2009).



**Figura10: Balance de materia del zumo de huito.**

### **4.3 SELECCIÓN DEL MEJOR ZUMO OBTENIDO DESPUÉS DEL ACONDICIONAMIENTO Y PASTEURIZACIÓN.**

En el Cuadro 5 se presentan los resultados de la evaluación microbiológica del zumo pasteurizado y sin pasteurizar, con y sin adición de conservador químico, a los 0, 15 y 30 días de almacenaje. Las muestras con conservador químico y pasteurizadas no presentaron crecimiento de coliformes totales, aerobios mesófilos viables, mohos y levaduras; sin embargo, las muestras no pasteurizadas y sin conservador químico, presentaron desarrollo de levaduras. Al respecto MINSA/DIGESA (2008) en la norma 071-MINSA-DIGESA V01 establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano para su comercialización, indica que como máximo debe contener 10 UFC/mL para mohos y levaduras, para coliformes totales no indica un valor específico y para aerobios mesófilos 10 UFC/mL como máximo (Anexo 3). Escobar et al. (2014) menciona que la pasteurización junto con la adición de conservante es un tratamiento combinado para formar una barrera sinérgica con el objetivo de alargar la vida útil de un alimento. Amaya (2017) indica que el sorbato de potasio es muy utilizado en bebidas y zumos de fruta para protegerlos contra la oxidación producida por los microorganismos siendo su grupo carboxilo altamente reactivo, comportándose como un antioxidante.

El Cuadro 6, se muestran los resultados de las evaluaciones realizadas a los cuatro tratamientos en capacidad antioxidante y compuestos bioactivos. El análisis estadístico (anexo 4) determinó que la adición del conservante no tuvo influencia significativa en el contenido de vitamina C, Polifenoles, Genipina y ácido Geniposídico. Sin embargo, sobre la medida de la capacidad antioxidante indicó que existe diferencia significativa entre los grupos tratados con conservante y sin conservante; García (2005) menciona que los agentes oxidantes atacan al sorbato de potasio en los enlaces olefínicos dando peróxidos, seguido de su degradación y polimerización, esta sería la razón por la que los valores de la capacidad antioxidante aumentan ligeramente de un zumo a otro. Kuskosky et al. (2005) menciona que la capacidad antioxidante está dada por la suma de las capacidades de cada uno de los componentes presente en el alimento; al añadir el sorbato de potasio contribuyo en la medida de la capacidad antioxidante de los zumos con respecto a los que no se les añadió. Con respecto al tratamiento de pasteurización el análisis estadístico, indicó que si existe diferencia significativa entre los grupos de zumo pasteurizados con los que no fueron pasteurizados, demostrándose mediante prueba de rango múltiple de Tukey su significancia.

**Cuadro 5. Cuadro comparativo del análisis microbiológico de los diferentes tratamientos de los zumos de huito**

Control microbiológico	Sin adición de conservante						Con adición de Sorbato de potasio al 0,03%					
	Zumó sin pasteurización (SPSC)			Zumó pasteurizado (PSC)			Zumó sin pasteurización (SPCC)			Zumó pasteurizado (PCC)		
Días de evaluación	0 días	15 días	30 días	0 días	15 días	30 días	0 días	15 días	30 días	0 días	15 días	30 días
Mohos y levaduras (UFC/mL)	Negativo <1	Positivo 17x10 <sup>3</sup>	No evaluado	Negativo <1	Negativo <1	Negativo <10	Negativo <1	Positivo 11x10 <sup>3</sup>	No evaluado	Negativo <1	Negativo <1	Negativo <10
Aerobios mesófilos viables (UFC/mL)	Negativo <10	Negativo <10	Negativo <10	Negativo <10	Negativo <10	Negativo <10	Negativo <10	Negativo <10	Negativo <10	Negativo <10	Negativo <10	Negativo <3
Coliformes totales* (UFC/mL)	Negativo <3	Negativo <3	Negativo <3	Negativo <3	Negativo <3	Negativo <3	Negativo <3	Negativo <3	Negativo <3	Negativo <3	Negativo <3	Negativo <3

**Nota:** Los valores <3 y <10 indica ausencia de microorganismos, según MINSA /DIGESA (2008) (anexo 3). \*La medida de coliformes totales fue con el objetivo de verificar el empleo de las buenas prácticas de manufactura en la obtención del zumo de huito. **SPSC:** sin pasteurizar sin conservante; **PSC:** pasteurizado sin conservante; **SPCC:** sin pasteurizar con conservante y **PCC:** pasteurizada con conservante.

**Cuadro 6:** Capacidad antioxidante y Compuestos bioactivos de zumo huito en los cuatro tratamientos

<b>Parámetro de control</b>	<b>SPSC</b>	<b>PSC</b>	<b>SPCC</b>	<b>PCC</b>
Vitamina C (g/100 mL)	0,84±0,18 <sup>ab</sup>	0,47±0,02 <sup>ac</sup>	0,87±0,094 <sup>ab</sup>	0,53±0,14 <sup>ac</sup>
Poli fenoles totales (mgEAG/100g de jugo)	130,46±8,09 <sup>ab</sup>	116,20±0,94 <sup>ac</sup>	132,80±1,66 <sup>ab</sup>	115,42±7,26 <sup>ac</sup>
Genipina (mg/100g)	1,91±0,09 <sup>ab</sup>	0,45±0,04 <sup>ac</sup>	1,93±0,04 <sup>ab</sup>	0,41±0,02 <sup>ac</sup>
Ac. Geniposidico (mg/100g)	1,95± 0,05 <sup>ab</sup>	1,68±0,12 <sup>ac</sup>	1,95±0,06 <sup>ab</sup>	1,66±0,14 <sup>ac</sup>
Capacidad antioxidante (μmol TE/100g)	1997,50±0,07 <sup>bc</sup>	2010,40±0,64 <sup>bd</sup>	1999,30±0,48 <sup>ac</sup>	2013,40±0,07 <sup>ad</sup>

**SPSC**= sin pasteurización y sin conservador químico, **PSC**: pasteurizado sin conservante; **SPCC**: sin pasteurizar con conservante y **PCC**: pasteurizada con conservante.

**Nota:** letras iguales significa que no existe diferencia significativa; letras rojas indica la significancia por el conservante y letras azules indica la significancia por la pasteurización.

Teniendo en cuenta lo antes indicado, de los cuatro tratamientos se seleccionó la muestra con adición de sorbato de potasio como conservador químico y pasteurizado a temperatura de ebullición por un tiempo de 30 segundos (PCC), a pesar que el zumo PSC no presento desarrollo de microorganismos, pero comparando ambos zumos estadísticamente no hay diferencia significativa entre sus compuestos bioactivos y de acuerdo con lo recomendado por Villareal et al. (2013) y Elías et al. (2013) la combinación de la pasteurización y conservante son una buena barrera que alarga la vida útil del producto.

#### 4.4 EFECTO DEL PROCESAMIENTO Y ESTABILIDAD EN LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS BIOACTIVOS.

##### a) CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

En el Cuadro 7 se presenta los resultados de la capacidad antioxidante en cada una de las tres etapas del procesamiento del zumo de huito.

**Cuadro 7: Efecto del procesamiento sobre la Capacidad antioxidante**

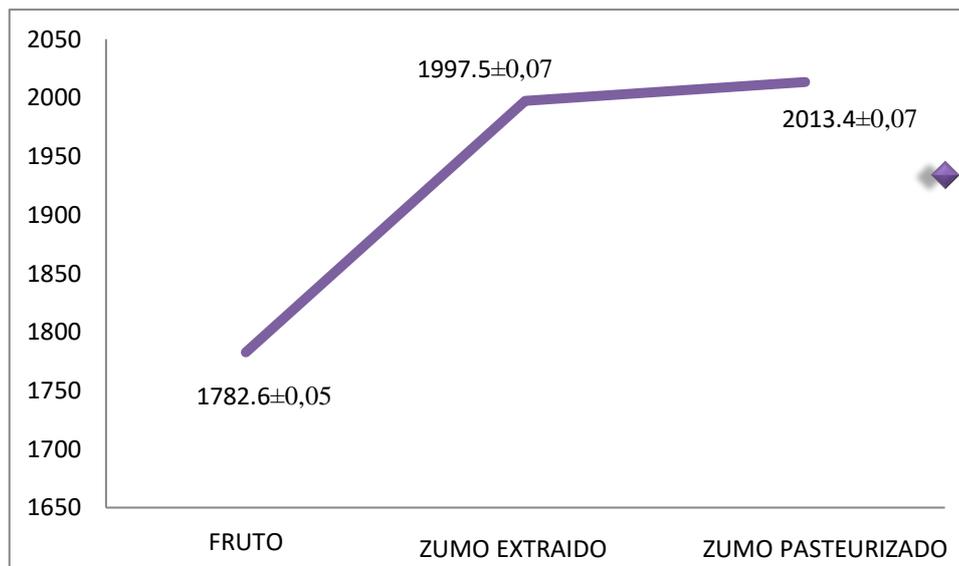
Proceso Parámetro de control	Fruto <i>in natura</i>	zumó después de la extracción	Zumo después de la pasteurización
Capacidad antioxidante ( $\mu\text{mol TE}/100\text{g}$ )	1782,60 $\pm$ 0,05 <sup>c</sup>	1997,50 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	2013,40 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>

Nota: letras iguales indica que no existe diferencia significativa.

En la Figura 10, se presenta la variación de la capacidad antioxidante durante el procesamiento; se aprecia que va aumentando en la extracción y en la pasteurización. El análisis estadístico ANOVA (anexo 4) indicó la significancia entre los valores hallados para la materia prima, zumo extraído y zumo pasteurizado; el test de Tukey confirmo que eran altamente significativos, al respecto Pérez – Jiménez et al. (2007) mencionan que la capacidad antioxidante de un alimento viene determinada por las interacciones sinérgicas entre sus diferentes compuestos antioxidantes (polifenoles, vitaminas, carotenoides) presentes en el, así como el modo de acción concreto de cada uno de ellos; bajo esta premisa significaría que al encontrarse en un ambiente de estrés como es la ruptura de los tejidos producidos por el pelado y picado del fruto, inducen a cambios fisiológicos (Pradas – Baena 2015) como aumento de la frecuencia respiratoria, estimulando así otras vías metabólicas en

respuesta al daño ejercido para evitar o contrarrestar la oxidación producida por la exposición al oxígeno del medio y la radiación en forma de luz; como la producción de polifenoles que se incrementa cuando aumenta el daño o herida y estos entrarían en acción, sugiere que estos compuestos son los principales contribuyentes a la acción antioxidante, por eso es que se observa un aumento de la capacidad antioxidante de fruto a zumo extraído. Lo que sucede durante el procesado es aún muy complejo, porque no solo existe la acción de las moléculas conocidas si no también están las enzimas como el superóxido dismutasa, catalasa, entre otras que están presentes dentro de las células, que por efecto del daño por corte estas se liberan dando como resultado el aumento de la capacidad antioxidante (Venereo 2002).

Con respecto a la siguiente etapa de la pasteurización donde el zumo está expuesto al calor (temperatura de ebullición). Faria (2019) hace hincapié que además de la vitamina C, los polifenoles y los carotenos (no evaluados en esta investigación) no son los únicos componentes que presentan acción antioxidante. Durante la pasteurización se producen nuevos compuestos, por acción del calor, resultado de la reacción de Maillard (condensación de azúcares con aminoácidos libres, péptidos o proteínas) lo que permite la formación de una amplia variedad de compuestos como quinonas, polímeros tipo II, que son los que dan productos coloreados de alto peso molecular conocidas como melanoidinas, además de compuestos furanosicos, que dan el color caramelo, entre otros (Yanagimoto et al. 2002 y Yilmaz et al. 2005); considerados antioxidantes no nutrientes lo que finalmente contribuirá o contrarrestará la pérdida de los componentes antioxidantes principales e importantes (Nicoli et al.1997). Similares resultados obtuvieron Cano et al. (2004), en zumo de naranja y percibió que durante la pasteurización se liberaban componentes que acentuaban las propiedades antioxidantes del producto. Miranda et al. (2007) mencionan que a medida que aumenten la concentración de los productos de Maillard la capacidad antioxidante aumentara.



**Figura 11: Variación de la Capacidad Antioxidante (µmolTE/100g)**

## b. Compuestos bioactivos

En el Cuadro 8 se presenta los resultados de la variación de los compuestos bioactivos en cada una de las tres etapas del procesamiento del zumo de huito.

**Cuadro 8: Efecto del procesamiento sobre los Compuestos Bioactivos.**

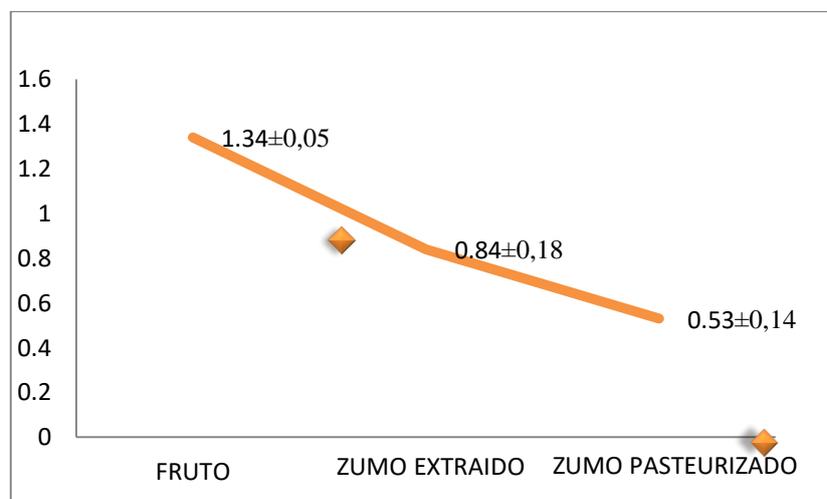
Proceso Parámetro de control	Fruto <i>in natura</i>	zumo después de la extracción	Zumo después de la pasteurización
Vitamina C (g/100 mL)	1,34±0,05 <sup>a</sup>	0,84±0,18 <sup>b</sup>	0,53±0,14 <sup>c</sup>
Poli fenoles totales (mgEAG/100g de jugo)	219,18±23,60 <sup>a</sup>	130,46±8,09 <sup>b</sup>	115,42±7,26 <sup>b</sup>
Genipina (mg/100g)	0,72±0,05 <sup>b</sup>	1,91±0,09 <sup>a</sup>	0,41±0,02 <sup>c</sup>
Ac.Geniposidico (mg/100g)	1,64 ±0,25 <sup>b</sup>	1,95 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,66 ±0,14 <sup>b</sup>

Nota: letras iguales indica que no existe diferencia significativa.

### b.1. Vitamina C

El contenido de vitamina C en la materia prima es muy bajo, y es afectado por el procesamiento, ocasionando una pérdida considerable; la evaluación estadística (anexo 4) con un F de 48,82 (p-valor=  $1,71 \times 10^{-6}$ ), ratifica la diferencia significativa por efecto del proceso y el test de Tukey confirma la significancia; en la Figura 11 se aprecia una clara reducción

después de la extracción, debido probablemente a la exposición del jugo al oxígeno del ambiente durante la extracción lo que provocaría su pérdida por oxidación (Avalo et al. 2009 y Xammar et al. 2006); la pasteurización, a pesar que fue por corto tiempo (30s) afectó el contenido de vitamina C disminuyendo notablemente con respecto al contenido inicial (de la fruta *in natura*), Villareal et al. (2013) menciona que la retención del ácido ascórbico es mayor cuanto menor es el tratamiento térmico, ya sea en tiempo y temperatura. Así mismo, Cardero et al. (2009) menciona que la vitamina C es poco estable y muy sensible a la temperatura y al almacenamiento, por lo indicado, se considera un parámetro tecnológico medido durante el procesado de alimentos (Melo et al. 2018).

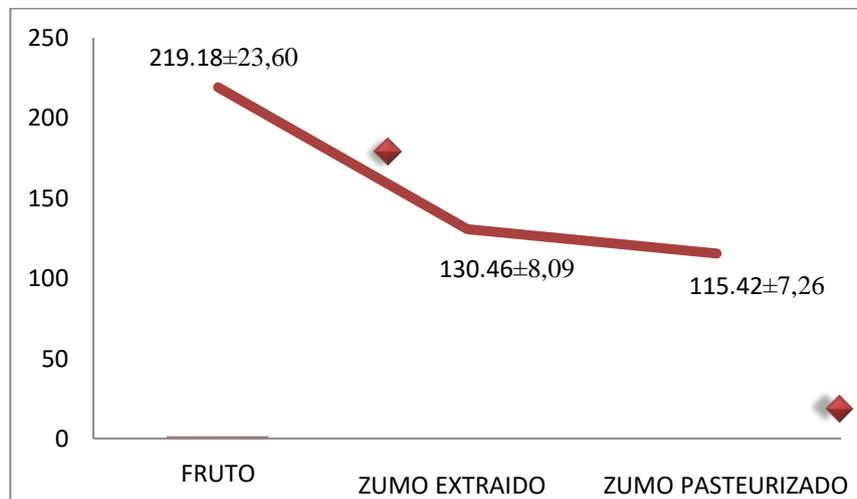


**Figura 12: Variación del contenido de Vitamina C (g/100 mL)**

### **b.2. Polifenoles totales**

En la Figura 12 se aprecia el efecto del procesamiento sobre el contenido de polifenoles, los que variaron en 40 por ciento por efecto de la extracción y 12 por ciento por efecto del tratamiento térmico. Estadísticamente (anexo 4) se encontró que el proceso de extracción afecta la concentración de polifenoles totales en el fruto y en el zumo con tratamiento térmico, pero no influye entre la extracción y pasteurización ya que estadísticamente no hay diferencia significativa a pesar de que numéricamente se note un contenido menor después del tratamiento térmico y el test de Tukey ratifica lo antes indicado. Al respecto Coronado et al. (2015), mencionan que el pelado y cortado son procedimientos que incrementan la actividad metabólica del producto, afectando principalmente sobre los compuestos fitoquímicos presentes y consecuentemente la alteración de sus propiedades. Kumar et al. (2017) indican que la degradación o pérdida de estos compuestos polifenólicos como los

flavonoides, puede deberse a los diferentes grados de sensibilidad al tratamiento térmico, el cual estaría en función de su estructura, a la presencia o ausencia de oxígeno, por lo tanto, cuando el fruto se expuso al oxígeno en el momento del picado y de la extracción, estos compuestos posiblemente se vean afectados. Neta (2014) afirma que los polifenoles se degradan por calentamiento; los procesos térmicos tienen una gran influencia sobre la disponibilidad de los polifenoles presentes en alimentos y está directamente relacionado por la magnitud y duración de la exposición al calor como ocurre en la pasteurización, en esta investigación el tiempo de pasteurización fue de 30 segundos, y uno de los efectos fue el oscurecimiento que presenta el zumo producido posiblemente por la degradación de los fenoles por la acción de la enzima polifenol oxidasa (Coronado et al. 2015).



**Figura 13: Variación del contenido de Polifenoles totales (mg EAG/100g)**

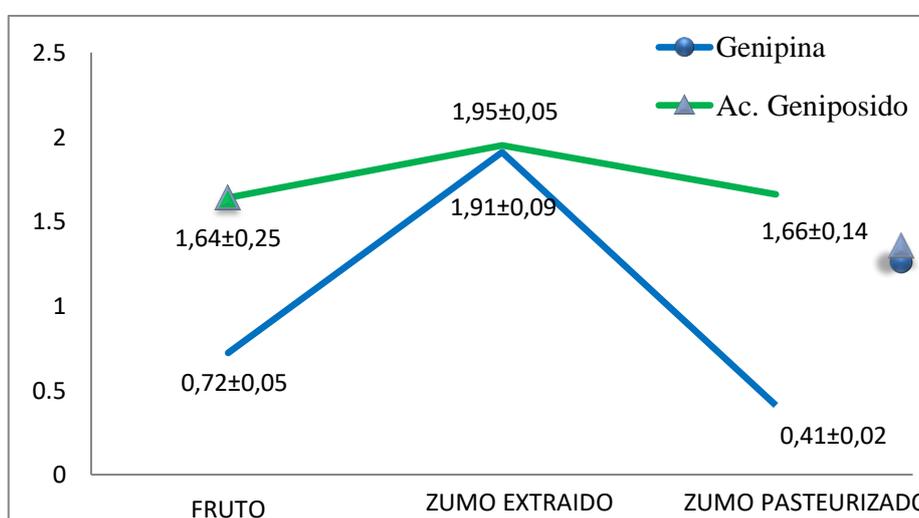
### **b.3. Genipina y ácido Geniposídico**

En el Figura 13, se muestran las concentraciones de genipina y ácido geniposido; Los resultados obtenidos en cada una de las etapas del procesamiento muestran una reducción del contenido de genipina. La evaluación estadística (anexo 4) confirma la significancia.

Comparando el contenido de genipina en el fruto *in natura* con el zumo recién extraído se observa que aumenta, posiblemente debido a la extrusión que es sometido el fruto rompiendo los tejidos favoreciendo así la liberación de este metabolito, ya que la acción mecánica por presión produce la rotura celular y la extracción del zumo (CEUPE s/f) y además se ve favorecida por la energía mecánica que es convertida en calor, debido a la fricción entre el producto cuando es transportada dentro de la cámara con gran esfuerzo cortante que produce

el tornillo (Salas 2003) . En la pasteurización, el calor ocasiona la pérdida o degradación de este metabolito en un 43 por ciento; Jiménez - Quesada et al. (2017) indican que este compuesto se degrada cuando son extraídos y al tratamiento térmico empleado. Faria (2019) indica que estos compuestos tienen baja estabilidad al calor, siendo muy susceptibles a degradaciones por oxidaciones cuando son sometidos a procesos térmicos.

El valor encontrado de 0,72 mg/100mg para el fruto *in natura* de genipina, es muy bajo comparado con 5.03mg/g, reportados por Neri-Numa et al. (2019), la variación posiblemente se debe a las diferentes condiciones climáticas y geográficas donde se desarrolla el fruto (Navarro et al. 2018). El valor obtenido en zumo aumenta en la extracción, posiblemente debido a que cuando el fruto es sometido a una extrusión donde se rompen los tejidos provocando una liberación de estos metabolitos. Neri – Numa et al. (2019) indican que la genipina se concentra en el endocarpio, zona de las semillas, del fruto inmaduro y que durante la maduración disminuye considerablemente, al glicosilarse. Teniendo en cuenta, las recomendaciones de los investigadores antes indicados, se optó por procesar el fruto con endocarpio y mesocarpio juntos, a fin de obtener la mayor concentración de genipina en el zumo.



**Figura 14: Variación del Contenido de Genipina (azul) y Ac. Geniposido (verde) (mg/100g)**

Con respecto al ácido geniposídico, el ANOVA y el test de Tukey (anexo 4), indican que al comparar materia prima (fruto), con el zumo extraído, determinó diferencia significativa con

respecto al zumo recién extraído, sin embargo, entre el fruto y el zumo pasteurizado no existe diferencia estadística significativa.

Neri – Numa et al. (2019) indican que este ácido se concentra en el endocarpio (parte gomosa que envuelve a las semillas), que aumenta conforme el fruto va madurando dado que la genipina presente en concentraciones altas en fruto verde se glicosila y se va transformando en ácido geniposido y en geniposido. Los valores obtenidos difieren de los encontrados 25,04 mg/g de ácido geniposido por Neri – Nume et al. (2020), en fruto maduro. Faria (2019) reporta una pérdida de ácido geniposídico del 77% por efecto de la temperatura (100°C) en muestras de extracto secadas por *spray dryer*.

#### 4.5 ALMACENAMIENTO DEL ZUMO A TEMPERATURA AMBIENTE

En el Cuadro 9 se muestran los resultados de la evaluación microbiológica de la muestra de huito que obtuvo mejores resultados en la estabilización y pasteurización y que fuera almacenada por 90 días.

**Cuadro 9: Control microbiológico del zumo de huito hasta los 90 días de almacenamiento a temperatura ambiente.**

Control microbiológico	Días de almacenamiento			
	0	30	75	90
Aerobios termófilos (UFC/mL)	<10	<10	<10	<10
Mohos y levaduras (UFC/mL)	<10	<10	<10	<10
Coliformes totales (UFC/mL)	<3	<3	<3	<3
Coliformes fecales (UFC/mL)	<3	<3	<3	<3
Aerobios mesófilos viables (UFC/mL)	<10	<10	<10	<10

**Nota:** Los valores <3 y <10 indican ausencia de microorganismos en ensayo

Elaboración propia

De acuerdo a los resultados observados, el zumo es estable en el tiempo, debido a que los tratamientos previos utilizados en su obtención fueron llevados adecuadamente, aplicando las buenas prácticas de manufactura. La combinación del conservador químico y la

pasteurización además de su pH ácido, hicieron una barrera perfecta de conservación, para que no desarrolle microorganismos y no se altere la calidad del zumo (Guevara et al. 2008). Respecto al sorbato de potasio, este conservador químico actúa mejor a pH ácidos (2,3 – 3,7) y no generara compuestos tóxicos durante el almacenamiento (Aguilar 2012).

#### **4.6 CARACTERIZACIÓN DEL PRODUCTO FINAL DESPUÉS DEL ALMACENAJE**

En el Cuadro 10 se muestran los resultados de la composición química del zumo de *Genipa americana* L, después de transcurrir 90 días de almacenaje. Se observa que el zumo es alto en acidez, mantiene el inicial °Brix y su bajo en pH, propiedades que contribuyen como barreras en su conservación, evitando el crecimiento microbiano; con respecto al contenido de azúcares reductores es característico el elevado porcentaje en frutos carnosos (Souza 2007 y Hamacek et. al. 2013). Tiene un elevado contenido de Polifenoles Totales (mgEAG/100g de jugo) y Capacidad antioxidante ( $\mu\text{mol TE}/100\text{g}$ ) los que le dan la propiedad de neutralizar a los radicales libres, características que lo ubican como un producto nutracéutico, recomendado como antioxidante natural (Faria, et al. 2019).

Así mismo contiene Genipina (mg/100mL) y Ácido Geniposídico (mg/100mL) pertenecientes al grupo de los iridoides que poseen características funcionales como analgésico, anticoncepcional, contra el asma (Faria, 2019); poseen actividad antipromotora de tumores, antiinflamatorio, mejora la capacidad de retención de la memoria de corto plazo, al respecto Yamazaki y Chiba (2007) sugieren que genipina induce neurogénesis, es decir, genera neuronas nuevas a partir de células madre. (Bentes et al. 2014) mencionan que genipina tiene propiedades analgésicas, con actividad fibrolítica, neuroprotectora, cardiovascular, antibacteriana, antiviral y actividad hipoglucémica (Moura 2016, Silva 2019 y Alves 2017). El ácido geniposídico presenta una propiedad purgativa se utiliza en el tratamiento de enfermedades hepáticas (Nathia – Neves et al. 2018), la genipina ofrece una hepatoprotección contra el daño provocado por la acción antioxidante y antiapoptosis de los lipopolisacáridos y D-galactosamina (Kim et al. 2010). Según Drohse y Molgaard (2000), indican que el interés en los iridoides es por la presencia de su centro quiral en su molécula los que son precursores potenciales en la elaboración de medicamentos contra el HIV y el cáncer.

**Cuadro 10: Composición físico química del zumo de Genipa americana L.**

<b>Parámetro</b>	<b>Cantidad</b>
Humedad (%)	82,80
Grasa (%)	2,78±0,78
Proteína (%)	0,187±0,02
Cenizas (%)	0,603±0,08
Fibra (%)	0,00
Carbohidratos (%)	8,56
Acidez (g/100mL) (como Ac. Cítrico)	1,64±0,36
Brix (%)	16,24
pH	3,30
<b>Componentes bioactivos:</b>	
Vitamina C (g/100 mL)	0,52±0,14
Azúcares reductores (%)	6,94±0,24
Polifenoles Totales (mg EAG/100g de jugo)	115,24±7,20
Capacidad antioxidante (µmol TE/100g)	2013,70±0,07
Genipina (mg/100 mL)	0,43±0,02
Ácido Geniposídico (mg/100 mL)	1,67±0,15

Elaboración propia

En el Cuadro 11 se muestra el resultado del análisis mineral del zumo obtenido, presentando siete de los 9 minerales esenciales asignados en las referencias de ingesta dietética (Fennema et al. 2008) a saber: calcio, fosforo, magnesio, hierro, zinc, yodo, cobre, manganeso y cromo; llamados así debido a su importancia ya que intervienen en ciertas reacciones enzimáticas que ocurren durante el metabolismo humano. Como vemos el huito presenta contenidos altos en calcio, fosforo, hierro, magnesio y potasio comparado con los reportados por Souza (2007), Souza et al. (2012) y Muñoz et al. (2009). De acuerdo a los requerimientos diarios de minerales fijados por la OMS<sup>1</sup>, el zumo de huito cumple con los minerales boro y potasio al beber una botella de 300 mL. Si bien las cantidades de los otros minerales no alcanzan a las necesidades diarias estos se complementarían con una dieta variada en frutas y verduras.

**Cuadro 11: Composición mineral del zumo de *Genipa americana* L.**

Elementos minerales	Cantidad (mg/Kg)	Souza (2007) (mg/Kg)	Souza (2012) (mg/Kg)	Muñoz (2009) (mg/Kg)	Requerimientos según la OMS <sup>1</sup> mg/día
Calcio	96,37	56,73	13,23	-	1300-1000
Fosforo	216,14	17,12	0,59	-	800-1000
Hierro	4,18	0,35	0,22	0,56	5-30
Magnesio	260,61	38,55	8,17	17,98	150-350
Potasio	3674,00	235,27	92,55	-	750-2000
Sodio	25,57	-	-	-	2000
Zinc	0,68	0,05	-	-	15
Oxido de silicio	9,91	-	-	-	15-30
Boro	6,66	-	-	-	2-6

**Fuente:** Souza (2007); Souza (2012); Muñoz (2009)

La OMS<sup>1</sup>, destaca la importancia bajar el consumo de sodio en niños, porque puede elevarles la tensión arterial, pero debe aumentarse la cantidad de potasio que es el regulador de la tensión arterial y así reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares en adultos, en estos casos el zumo es una buena opción, así como para controlar la ictericia y anemia por el contenido de hierro presente (Faria 2019).

En general el consumo de minerales es importante para mantener el equilibrio de nuestro cuerpo, como el calcio que constituye nuestra estructura ósea, otros contribuyen con la formación de cartílagos y su posterior calcificación como el silicio y boro (Calomme et al. 1998 y Sosa- Baldivia et al. 2016), la importancia del boro es su participación en la síntesis de la vitamina D, el fosforo contribuye entre otras funciones a mantener el pH tampón de nuestro cuerpo (Primo 1997). El magnesio es necesario para la funcionalidad de muchas enzimas; el zinc es un cofactor de muchas enzimas y es regulador de la expresión genética; el hierro participa en el transporte de oxígeno y forma parte de la molécula de la hemo y mioglobina participando en el metabolismo respiratorio energético (Primo 1997).

De acuerdo a la caracterización final del zumo de huito queda claro que puede ser considerado un alimento nutraceútico por la presencia de sus componentes bioactivos y su aporte en minerales presentes en el.

<sup>1</sup>OMS: <https://www.who.int/elena/nutrient/es/>

## V. CONCLUSIONES

- Se caracterizó física y químicamente al fruto de huito, encontrándose diferentes tamaños y formas (ovaladas y globulares), resultado de esto se obtuvo una variabilidad en sus pesos, la pulpa representa el mayor porcentaje siendo esta de color amarillo grisáceo con alto contenido en sólidos disueltos.; mientras que la cascara tiene un color amarillo opaco.
- El procesamiento tuvo una influencia negativa sobre la vitamina C, representando una pérdida del 40 por ciento aproximadamente durante las etapas de obtención del zumo, estos resultados confirmarían la sensibilidad de esta vitamina durante la preparación de la materia prima antes, durante y después de la extracción del zumo.
- Los compuestos polifenólicos también presentaron una alta sensibilidad al procesamiento evidenciándose una pérdida considerable, durante la preparación de la materia prima lo que incrementaron su actividad metabólica provocando su degradación.
- Los iridoides como la genipina y ácido geniposídico evaluados, fueron sensibles al proceso de pasteurización confirmándose que estos compuestos tienen baja estabilidad al calor.
- La capacidad antioxidante, sin embargo, tuvo un incremento durante el procesamiento observándose un efecto positivo, la acción mecánica de corte y picado del fruto ha liberado muchos otros compuestos con acción antioxidante y el proceso de pasteurización generó otros productos que contribuyen a su capacidad antioxidante.
- La adición de sorbato de potasio como conservante, no tuvo influencia significativa sobre los componentes bioactivos, pero junto con la pasteurización ejercieron una potente barrera en la estabilidad del zumo durante el tiempo de almacenamiento.
- Finalmente, el zumo de huito obtenido y seleccionado fue caracterizado, cumpliendo así los requerimientos del CODEX; este producto cuenta con alto valor en su capacidad antioxidante, presenta buen contenido mineral es rico en potasio, fósforo y magnesio, de acuerdo a estas características podría ser considerado un alimento nutracéutico y funcional.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Realizar investigaciones sobre almacenamiento del zumo de huito a diferentes temperaturas.
- Determinar el tiempo de vida útil del zumo.
- Investigar las propiedades del residuo obtenido después de la extracción.
- Elaboración de mezclas con zumos de otras frutas para la mejora del sabor conjuntamente con una evaluación sensorial.
- Evaluar el efecto de la concentración del zumo en las propiedades de conservación del producto.
- Profundizar en el estudio de otros metabolitos presentes en el fruto de huito.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguilar M.J. 2012. Métodos de conservación de alimentos. Red del tercer milenio. Primera edición. MX. Recuperado de:

[http://www.aliat.org.mx/BibliotecasDigitales/economico\\_administrativo/Metodos\\_de\\_conservacion\\_de\\_alimentos.pdf](http://www.aliat.org.mx/BibliotecasDigitales/economico_administrativo/Metodos_de_conservacion_de_alimentos.pdf)

Álvarez, O.G. 2013. Extracción, Caracterización y valoración de genipina a partir del fruto de *Genipa americana*. (tesis de pregrado). Universidad ICESI. Cali. CO. Recuperado de:

[https://repository.icesi.edu.co/biblioteca\\_digital/bitstream/10906/76708/1/extraccion\\_caracterizacion\\_valoracion.pdf](https://repository.icesi.edu.co/biblioteca_digital/bitstream/10906/76708/1/extraccion_caracterizacion_valoracion.pdf)

Alves, J.S.F., Medeiros L.A. de, Fernandes - Pedrosa M. de F., Araújo R. M. y Zucolotto S.M. 2017. Iridoids from leaf extract of *Genipa americana*. Short communication. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. Volume 27, Issue 5, September–October. Pages 641-644. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2017.03.006>

Amaya, A.J.L. 2017. *Antimicrobianos Químicos en la Industria Alimentaria*. (tesis de pregrado). Universidad Nacional de Trujillo. Recuperado de: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/10014/Amaya%20Arana%20Jackeline%20Lorena.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. 2005. Official Methods of Analysis. Patricia Cunniff. Virginia. USA.

Arias, V.A.J., y Rueda, L.G. 2016. *Cinética de la reacción de los radicales libres con antioxidantes naturales, fenoles*. Trabajo de aplicación. Universidad Industrial de Santander. Co. Recuperado de: DOI: [10.13140/RG.2.2.13622.09283](https://doi.org/10.13140/RG.2.2.13622.09283)

Aroca, P.E.S. 2010. *Estudio del sorbato de potasio en la vida útil de mermelada de zanahoria (Daucus carota) con adición de coco (Cocos nucifera)*. (tesis de pregrado). Universidad Técnica de Ambato. Recuperado de: <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/863>

Avalo, B., Pérez, S. y Tovar, M. 2009. Caracterización preliminar del proceso de concentración del jugo natural de naranja en un evaporador de tres efectos. *Revista Interciencia*. INCI. V.34, n.11. Caracas. Recuperado de: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442009001100007](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442009001100007)

Avello, M. y Suwalsky M. 2006, Ap. 02. Radicales Libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Revista Atenea*. N°494. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-04622006010>.

Bautista, H.K.M. 2013. *Elaboración de una bebida nutritiva utilizando: spirulina (Spirulina platensis), y mora (Morus nigra), con tres concentraciones y dos tipos de conservantes (benzoato de sodio y sorbato de potasio)*. Universidad Técnica de Cotopaxi. EC. (Tesis de pregrado). Recuperado de: <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/2669/1/T-UTC-00205.pdf>

Bentes, de S.A. y Marcadante Z.A. 2014, nov. 05. Influence of the stage of ripeness on the composition of iridoids and phenolic compounds in Genipap (*Genipa americana* L.). *Journal Agricultural and Food Chemistry*. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25323434>

Beserra, A.M.M., Machado de S.P.H., Campos A.A.M., Matias do P.G., Carvalho M. do C.E., Arraes M.G. y Gomes L.T.L. 2011, ago. 07. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruit from northeastern Brazil. *Food Research International*. Pages 2155-2159. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.051>

Bruneton, J. 2001. *Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales. Segunda Edición*. Ed. Acribia S.A. Zaragoza. ES.1099 págs.

Busso, C.C.I. 2016. Estabilidad de polifenoles y Caracterización físico-química y sensorial en pulpas de frutos rojos en relación a los procesos tecnológicos para la obtención de alimentos e ingredientes alimenticios. Recuperado de: [http://repositorioubi.sisbi.uba.ar/gsd/collect/posgrauba/index/assoc/HWA\\_1425.dir/1425.PDF](http://repositorioubi.sisbi.uba.ar/gsd/collect/posgrauba/index/assoc/HWA_1425.dir/1425.PDF). DOI:10.1021/jf503378k

Calomme M.R., Cos P., Vingerhoets R., Van Hoorebeke C. y Vanden Berghe D.A. 1998 Sociedad Americana para la nutrición parenteral y enteral. Recuperado de: [http://biosilecuador.com/PDF/Estudio\\_Clinico\\_Biosil\\_4\\_Estudio\\_Comparativo\\_de\\_BioDisponibilidad.pdf](http://biosilecuador.com/PDF/Estudio_Clinico_Biosil_4_Estudio_Comparativo_de_BioDisponibilidad.pdf)

Cano, A. y Arnao, M.B. 2004. Actividad antioxidante hidrofílica y lipofílica y contenido en vitamina C de zumos de naranja comerciales; relación con sus características organolépticas. *Revista de Ciencia Tecnología Alimentaria*. Pág. 185-189. Recuperado de: <https://doi.org/10.1080/11358120409487759>

Cardero, R.Y., Sarmiento, G.R. y Selva, C.A. 2009. Importancia del consumo de hierro y vitamina C para la prevención de anemia ferropénica. *MEDISAN*. v.13 n.6. Artículo de Revisión. Recuperado de: [http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol13\\_6\\_09/san14609.pdf](http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol13_6_09/san14609.pdf)

CATIE. 1999. *Genipa americana* Linnaeus. Nota técnica sobre manejo de semillas forestales N°72. Proyecto PROSEFOR. Centro Agronómico de Investigación y Enseñanza, Costa Rica. 2p.

CEUPE. Centro Europeo de Postgrado. ¿Qué es la separación mecánica de los alimentos? Blog. ES. Recuperado de: <https://www.ceupe.com/blog/que-es-la-separacion-mecanica-de-los-alimentos.html>

Chen Ch.; Han F.; Zhang Y.; Lu J. y Shi Y. 2008. Simultaneous determination of geniposide and its metabolites genipin and genipinine in culture of *Aspergillus niger* by HPLC. *Biomedical chromatography: BMC*. 22. 753-7. Recuperado de: DOI: 10.1002/bmc.993.

CODEX. 2005. Norma General del CODEX para zumos (jugos) y néctares de frutas (CODEX STAN 247-2005). Recuperado de: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh->

[proxy/en/?Ink=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCODEX%2B247-2005%252FCXS\\_247s.pdf](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.003)

Contreras – Calderón, J., Calderon-Jaimes, L., Guerra- Hernández, E. y García- Villanova B. 2011 de ago. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Research International*. Pages 2047-2053. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.003>

Coronado, M.H., Vega y Leon, S., Gutiérrez, T.R., Vázquez, F.M. y Radilla, V.C. 2015, junio. Antioxidantes: Perspectiva actual para la salud humana. *Revista chilena de Nutrición*. Recuperado de: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>

Drohse, H.B. y Molgaard P. 2000. HPLC analysis of the seasonal and diurnal variation of iridoids in cultivars of *Antirrhinum majus*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 28:949-962. Recuperado de: [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(00\)00045-4](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(00)00045-4)

Dussossoy, E., Brat P., Bony, E., Boudard, F., Poucheret, P., Mertz, C., Giaimis, J. y Michel, A. 2011, Ene. 07. Characterization, anti-oxidative and anti- inflammatory effects of Costa Rica noni juice (*Morinda citrifolia* L.). *Journal of Ethnopharmacology*. Recuperado de: doi: 10.1016/j.jep.2010.08.063

Elías, P.C., García T.S.M. y Morales S.E. 2013. Manual de tratamiento térmico de alimentos. Fondo Editorial de la UNALM.

Escamilla, J.C.I, Cuevas, M.E.Y. y Guevara, F.J. 2009. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. (en línea). *Revista Facultad de medicina de la UNAM*. Recuperado de: <http://www.ejournal.unam.mx/rfm/no52-2/RFM052000207.pdf>

Escobar, H.A., Márquez C.C.J., Restrepo F.C. E. y Pérez C.L.J. 2014. Aplicación de Tecnología de Barreras para la Conservación de Mezclas de Vegetales Mínimamente Procesados. *Revista Facultad Nacional de Agronomía. Medellín* 67(1): 7237-7245. Doi: <http://dx.doi.org/10.15446/rfnam.v67n1.42652>

Faria, dos S.T. 2019. *Avaliação do efeito do processo de secagem do extrato de jenipapo (Genipa americana L.)*. (tesis de pregrado). Universidad Federal de Uberlandia. BR. Recuperado de: <http://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/24514/5/Avalia%C3%A7%C3%A3oEfeitoProcesso.pdf>

Faria, dos S.T., Schmidt, R.C.V, Reis, M.H.M. y Cardoso, L.V. 2019. *Avaliação da extração de compostos fenólicos da polpa e casca do jenipapo (Genipa americana L.)*. Editorial Atena. Capítulo 11. Doi: 10.2253. Recuperado de: [Atenaeditora.com.br/post-artigo/12164](http://Atenaeditora.com.br/post-artigo/12164).

Fennema, R.O; Damodaran, S. y Parkin, K.L. (2010). *Química de los alimentos*. Eds. S Damodaran; KL Parkin; Fennema RO. 3 ed. Zaragoza. ES. ACRIBIA S.A. 1154p.

Granados, M.J.F. 2013. *Determinación de parámetros técnicos para elaborar Genipa ameircana L. (huito) en almibar*. (tesis de pregrado). Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. Iquitos – PE. Recuperado de: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/2448>

García, M.E., Fernández, S.I. y Fuentes, L.A. s/f. *Determinación de polifenoles totales por el método Folin- Ciocalteu*. Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. Recuperado de: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%ADnez%20et%20al.pdf?sequence=1#:~:text=El%20ensayo%20Folin%2DCiocalteu%20se,determinada%20espectrofotom%C3%A9tricamente%20a%20765%20nm>.

García, G.R.M. 2005. *Agentes bactericidas/bacteriostáticos a partir de sorbato de potasio, carvacrol y timol*. (tesis maestría). Universidad de las Américas Puebla. MX. Recuperado de: [http://catarina.udlap.mx/u\\_dl\\_a/tales/documentos/mca/garcia\\_g\\_rm/](http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/mca/garcia_g_rm/)

Guevara P.A. y Cancino Ch.K. 2008. *Métodos apropiados para inactivar o controlar el deterioro microbiológico en alimentos*. Recuperado de: <http://www.lamolina.edu.pe/postgrado/pmdas/cursos/dpactl/lecturas/Separata%20Metodos>

[%20apropiados%20para%20evitar%20el%20deterioro%20microbiologico%20en%20alimentos.pdf](#)

Hamacek, F.R; Moreira, A.V.B; Martino, D.H.S; Ribeiro, R.S.M. y Pinheiro-Sant'an, H.M. 2013. Valor nutricional, caracterização física e Físico-química de jenipapo (*genipa americana* l.) Do Cerrado de Minas Gerais. *Brazilian Journal Food Nutrição Araraquara*. Recuperado de: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/73/2004>

Hernández, V.R.M. y Pineda, C.R.C. 2003. *Estudio comparativo de la cuantificación del ácido ascórbico (vitamina C) en jugo de naranja utilizando el método de titulación yodometrica a micro escala y yodimetrica a macro escala*. (tesis de pregrado). Universidad de El Salvador. SV. Recuperado de: <http://ri.ues.edu.sv/5680/1/10126089.pdf>

Jiménez-Quesada, K. y Garro-Monge, G. 2017 enero - marzo. Establecimiento de callogénesis somática en *Plantago major* e Identificación de compuestos con actividad biológica. *Tecnología en Marcha*. Recuperado de: <https://www.scielo.sa.cr/pdf/tem/v30n1/0379-3982-tem-30-01-00038.pdf>

Kim SJ, Kim JK, Lee DU, Kwak JH, Lee SM. 2010. Genipin protects lipopolysaccharide-induced apoptotic liver damage in D-galactosamine-sensitized mice. *Eur J Pharmacol*. 2010;635(1-3):188-193. Recuperado de: doi: 10.1016/j.ejphar.2010.03.007

Kumar, R, Vijayalakshmi, S. y Nadasabapathi, S. 2017. Health Benefits of Quercetin. *Defense Life Science Journal*. Pag. 142-147. Recuperado de: <http://publications.drdo.gov.in/ojs/index.php/dlsj/article/view/11359/5869>

Kuskoski, EM; Asuero, AG; Troncoso, A.M.; Mancini-Filho, J. y Fett, R. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência y Tecnologia de Alimentos*. Campinas 25(4): 726-732. Recuperado de: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf>

Larez, C.V; Rivas, A. y Santos, O.I. 2014. Obtención de Genipina a partir de frutos de caruto (*Genipa americana* L.) del llano venezolano. *Revista avances en química*. Recuperado de: [www.saber.ula.ve/avancesenquimica](http://www.saber.ula.ve/avancesenquimica).

Lima, E. G., Tan, A. R., Tai, T., Marra, K. G., Defail, A., Ateshian, G. A. y Hung, C. T. 2009. Genipin enhances the mechanical properties of tissue-engineered cartilage and protects against inflammatory degradation when used as a medium supplement. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 91A (3), 692–700. Doi:10.1002/jbm.a.32305

Málaga, B.R y Guevara, P.A. 2013. Efecto del procesamiento del puré de aguaymanto sobre la vitamina C, compuesta fenólicos totales, carotenoides y capacidad antioxidante. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 79(2):162-174. Recuperado de: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v79n2/a09v79n2.pdf>

Medeiros, A.A. 2013. *Caracterização física e química, compostos bioativos e capacidade antioxidante de frutas nativas do Cerrado*. (tesi de maestri). Universidade Federal de Goiás. Recuperado en: <https://ppgcta.agro.ufg.br/up/71/o/DISSERTA%C3%87%C3%83O+Aline+Medeiros+Alves+2013.pdf>

Melo, E.A.P., Freitas, J.M.D., Santos, D.C.O., Silva, J.A., Sousa, J.S. y Freit, J.D. mayo del 2018. Efeito da desidratação foam mat na retenção de ácido ascórbico na polpa do jenipapo. 6º Simposio de Segurança Alimentar. Gramado RS-BR. Recuperado de: <https://docplayer.com.br/115161018-Efeito-da-desidracao-foam-mat-na-retencao-de-acido-ascorbico-na-polpa-do-jenipapo.html>

MINSA/DIGESA. 2008. Norma Técnica 071 V 01. Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad Para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano Para su Comercialización. Recuperado de: <https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas+Legales/alimentos/RM591MINS+ANORMA.pdf>

Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI). 2015. Fichas técnicas. PE. Recuperado de: <http://minagri.gob.pe/portal/datero/32-sector-agrario/frutas>

Miranda, I.G., Ventura, H.J., Suarez, C.S. y Fuertes, R.C. 2007. Actividad citotóxica y antioxidante de los productos de la reacción de Maillard de los sistemas modelo D-glucosa–glicina y D-glucosa- L-lisina. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. V.73, n.4(215-225). Recuperado de: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810-634X2007000400005&script=sci\\_abstract](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810-634X2007000400005&script=sci_abstract)

Morton, J. 1987. Genipap. *Genipa Americana* L. p. 441–443. In: Fruits of warm climates. Miami, US. Recuperado de: <https://hort.purdue.edu/newcrop/morton/genipap.html>

Moura, S.M.S., Sousa, de S.R.S y Junior, C.M.A. 2016. *Genipa americana* L.: Prospecção tecnológica. *Journal inderdisciplinar de Biociências*. V.1, n.2:31-35. Recuperado de: <https://doi.galoa.com.br/doi/10.17648/jibi-2448-0002-1-2-5174>

Muñoz, J.A.M.; Ramos – Escudero F. y Alvarado O.U.C. 2009. Evaluación del contenido nutricional de algunos alimentos consumidos por los pobladores de la región Selva. *Revista Horizonte Medico*. V.9. N°2. Pp. 75-80. Diciembre. PE. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/pdf/3716/371639765009.pdf>

Náthia - Neves, G. y Meireles, A.M.A. 2018. Genipap: A New perspective on natural colorants for the food industry. *Food and public Health*. 8(1):21-33. Recuperado de: DOI: 10.5923/j.fph.20180801.04

Navarro, H.A., Guzmán, L. D., Gonzales, M.E. 2018. Influencia de las zonas de crecimiento en la composición fisicoquímica del fruto de *Solanum betaceum* Cav. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 84(1):68-75 pág. Recuperado de: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810-634X2018000100007&script=sci\\_abstract&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810-634X2018000100007&script=sci_abstract&tlng=es)

Neta, L.G.S. 2014. *Caracterização y avaliação do potencial de bioativos e atividade antioxidantes de genipa americana L. desidratado*. (tesis de maestría). Universidade Federal da Bahia. Recuperado de: [http://www.pgalimentos.far.ufba.br/sites/pgalimentos.far.ufba.br/files/dissertacao\\_lindanor\\_gomes\\_neta.pdf](http://www.pgalimentos.far.ufba.br/sites/pgalimentos.far.ufba.br/files/dissertacao_lindanor_gomes_neta.pdf)

Nicoli, M.C., Anese, M., Parpinel, M.T., Franceschi, S., Lerici, C.R. 1997. Loss and/or formation of antioxidants during food processing and storage. *Elsevier Science Ireland. Cancer letters*. 114(1997) 71-74. Recuperado de:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304383597046284?via%3Dihub>

Noiarsa, P., Ruchirawat, S., Otsuka, H. y Kanchanapoom, T. 2008. Chemical constituents from *Oldenlandia corymbosa* L. of Thai origin. *Revista Journal Natural Medicine*. 62:249-250 pág. Recuperado de: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11418-007-0212-1>

Neri-Numa, I.A., Pessoa, G.M., Paulino, B.N. y Pastore, GM. 2018. *Avaliação das propriedades funcionais dos iridoides obtidos do jenipapo (Genipa americana L.)*. (tese doctoral). Universidade Estadual de Campinas. Recuperado de:

[http://scholar.google.com.pe/scholar\\_url?url=http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REP\\_OSIP/335001/1/Numa\\_IramaiaAngelicaNeri\\_D.pdf%23page%3D56&hl=es&sa=X&d=14507590828758770678&scisig=AAGBfm0l7JgJn-zUbdNFGHiHWsMStg415w&nossl=1&oi=scholaralrt&hist=hfo1dMMAAAJ:8401936315478410826:AAGBfm14QaR5rbO25OUfx8gJMnCBkGrCAQ](http://scholar.google.com.pe/scholar_url?url=http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REP_OSIP/335001/1/Numa_IramaiaAngelicaNeri_D.pdf%23page%3D56&hl=es&sa=X&d=14507590828758770678&scisig=AAGBfm0l7JgJn-zUbdNFGHiHWsMStg415w&nossl=1&oi=scholaralrt&hist=hfo1dMMAAAJ:8401936315478410826:AAGBfm14QaR5rbO25OUfx8gJMnCBkGrCAQ)

Neri-Numa I.A., Pessoa M.G., Arruda H.S., Pereira G.A, Paulino B.N., Angolini C.F.F., Ruiz T.G.A.L. y Pastore G.M. 2019. Genipap (*Genipa americana* L.) fruit extract as a source of antioxidant and antiproliferative iridoids. *Food Research International*. Volume 134, August. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109252>

Pantastico, E.B. 1975. Postharvest physiology, handling and utilization of tropical and subtropical fruits and vegetables. The AVI publishing Company Inc. USA.

Pacheco, P., Gonçalves, P.J., Oliveira, S.C. y Benedetti, P.G. 2014. Composição centesimal, compostos bioativos e Parâmetros físico-químicos do jenipapo (*genipa Americana* L.) *In natura*. BR. *Demetra: alimentação, nutrição & saúde*; 9(4); 1041-1054. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.12957/demetra.2014.11310>

Pearson, D. 1976. Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza. ES. 331 págs.

Pereira, A. 1982. Ensaio em viveiro florestal e fructificação de algumas espécies amazônicas. Pp. 1135-1138 In: *Anais do Congresso Nacional sobre essências nativas*. Silvicultura em S. Paulo. Revista do Instituto Florestal, Coordenadoria da pesquisa de recursos naturais. Secretaria de agricultura e abastecimento. Vol. 16A, Parte 2. São Paulo. BR.

Pérez – Jiménez, J. y Saura – Calixto, F. 2007. Metodología para la evaluación de capacidad antioxidante en frutas y hortalizas. Artículo presentado en el V Congreso Iberoamericano de *Tecnología postcosecha y agroexportaciones*. Recuperado de: [https://www.researchgate.net/publication/268003196\\_METODOLOGIA\\_PARA\\_LA\\_EVALUACION\\_DE\\_CAPACIDAD\\_ANTIOXIDANTE\\_EN\\_FRUTAS\\_Y\\_HORTALIZAS](https://www.researchgate.net/publication/268003196_METODOLOGIA_PARA_LA_EVALUACION_DE_CAPACIDAD_ANTIOXIDANTE_EN_FRUTAS_Y_HORTALIZAS)

Porto, CLGR; Cardoso, SVB; Barros AV; Cunha, FME; Araújo, MMA y Moreira – Araújo SR. 2014. Chemical Composition and antioxidant activity of *Genipa Americana* L. (Jenipapo) of the Brazilian Cerrado. *Journal of Agriculture and Environmental Sciences*. Recuperado de: DOI: 10.15640/jaes. v3n4a4.

Pradas-Baena, I.; Moreno-Rojas, J.M. y Luque de Castro, M.D. 2015. Chapter 1 - Effect of Processing on Active Compounds in Fresh-Cut Vegetables. *Processing and Impact on Active Components in Food*. Preedy V. (Ed.). Pages 3-10. Cordoba. ES. Academic Press. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404699-3.00001-9>.

Primo, Y.E. 1997. *Química de los Alimentos*. Editorial Síntesis S.A. Impreso en España. ISBN- 8477384517. 461 págs.

Reynel, C., Penningto, T.D., Pennington, R.T., Flores, C. y Daza, A. 2003. *Arboles útiles de la Amazonia peruana y sus usos. Un manual con apuntes de identificación, ecología y propagación de las especies*. Lima. PE. 536 pp.

Reynel, C., Pennington, T.D. y Pennington, R.T. 2016. *Arboles del Perú*. Lima. PE. 1047 p.

Rezende, L.C. de. 2010. *Avaliação da atividade antioxidante e composição química de seis frutas tropicais consumidas na Bahia*. (tese doutorado). Universidad Federal da Bahia. BR. Recuperado de: [www.repositorio.ufba.br:8080/ri/handle/ri/10639](http://www.repositorio.ufba.br:8080/ri/handle/ri/10639)

Rodrigues, J.A. 2011. *Determinação da actividade antioxidante e composição fenólica de vinhos portugueses e correlação com parâmetros de cor*. (tesis de pregrado). Universidade Nova de Lisboa. Recuperado de: [https://run.unl.pt/bitstream/10362/7040/1/Rodrigues\\_2011.pdf](https://run.unl.pt/bitstream/10362/7040/1/Rodrigues_2011.pdf)

Reyes, A.L.S. 2014. *Efecto de procesamiento sobre la estabilidad de polifenoles en extracto de mango (Mangifera indica L.)*. (tesis de pregrado). Escuela Agrícola Panamericana. Recuperado de: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/3374/1/AGI-2014-T038.pdf>

Rojas, B.S. 2013. *Efecto de la estandarización y tratamiento térmico en el contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en néctar de tomate de árbol (sacha tomate) Solanum betaceum Cau.* (tesis de pregrado) Universidad Nacional Agraria la Molina Lima. PE.

Rojas, L.J.P.; Perea, V.A. y Stashenko, E.E. 2009. Obtención de aceites esenciales y pectinas a partir de subproductos de jugos cítricos. *VITAE. Revista de la Facultad de Química y Farmacéutica*. CO. 110-115. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-40042009000100013&script=sci\\_abstract&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-40042009000100013&script=sci_abstract&tlng=es)

Romero, P.S., Domínguez, T.G. y Guzmán, L.D. 2014. Cuantificación de polifenoles en hojas de un clon de *Uncaria tomentosa* (Will. Ex Shult) D.C., proveniente de tres localidades de la región Ucayali. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 80(3): 174-182. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v80n3/a04v80n3.pdf>

Ruiz, H.J. 2011. Determinación experimental del contenido de ácido ascórbico (vitamina C) en zumo de naranja. *Revistas digital Innovación y experiencias Educativas*. Granada. ES. No 43. Recuperado de: <http://docplayer.es/8211112-Determinacion-experimental-del-contenido-de-acido-ascorbico-vitamina-c-en-un-zumo-de-naranja.html>

Salas, CH.W.A. 2003. Aplicación del sistema HACCP en el proceso de elaboración de alimentos de reconstitución instantánea a base de alimentos extruidos. (tesis de pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. PE. Recuperado de: [https://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/ingenie/salas\\_cw/salas\\_chw.pdf](https://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/ingenie/salas_cw/salas_chw.pdf)

Schmidt-Hebbel, H. 1990. Avances en Aditivos alimentarios y la reglamentación de los alimentos. Editorial Universitaria. Santiago - CH. Libro. 156 págs. Recuperado de: <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/121409/schmidh04.pdf>

Silva, da A.D., Costa,G.R, Borges, L.L. y Alves, F.S. 2019. *Preparação e caracterização físico-química do extrato hidroalcoólico de Genipa americana Linnaeus*. Revista Electrónica de farmacia. DOI:10.5216/ref. v16.47461

Sosa-Baldivia, A., Ruiz-Ibarra, G., Sosa-Ruiz, C., Etchevers-Barra, J. y Padilla-Cuevas J. 2016. Porque no ha sido posible probar la esencialidad del boro en el hombre: una hipótesis. En *XLI Congreso Nacional de la Ciencia del suelo*. México. Recuperado de: [https://scholar.google.es/scholar?hl=es&as\\_sdt=0%2C5&q=porque+no+ha+sido+posible+probar+la+esencialidad+del+boro+en+el+hombre&btnG=](https://scholar.google.es/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=porque+no+ha+sido+posible+probar+la+esencialidad+del+boro+en+el+hombre&btnG=)

Souza, N.C. 2007. *Características físicas, físico-químicas e químicas de três tipos de jenipapos (Genipa americana L.)*. (tesis de maestría). Universidade Estadual de Santa Cruz. Ilhéus- Bahia. BR. Recuperado de: <http://nbcgib.uesc.br/ppgpv/painel/paginas/uploads/09b94cf10075ef7c9b0e1a3303c56334.pdf>

Souza, de V.R., Pereira, P.P.A., Queiroz, F., Borges, V.S. y Carneiro, S.D.J. 2012. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. *Food Chemistry* Vol.134: 381-386. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814612004062>

Tarozzi, A. s/f. Applied Econometrics Lecture Notes on Causal Estimation. Profesor asociado de la Universidad de Pompeu Fabra. Editor asociado de Journal of Development Economics. ES.

Valdés, F. 2006. Vitamina C. Artículo de revisión. *Actas Dermosifiliograficas*. 97(9): 557-565 ES. Recuperado de: [www.actasdermo.org/es/vitamina-c/articulo/13095269](http://www.actasdermo.org/es/vitamina-c/articulo/13095269)

Venereo G.J.R. 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana Medicina Militar*. Vol. 31(2):126-33. abr-jun. Recuperado de: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0138-65572002000200009&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000200009&lng=es&tlng=es)

Villareal, D.Y., Mejía, E.D.F., Osorio, M.O. y Cerón, C.A.F. Julio a diciembre 2013. Efecto de la pasteurización sobre características sensoriales y contenido de vitamina C en jugos de fruta. *Bioteología en el sector Agropecuario y Agroindustrial*. 11(2):66-75. Recuperado de:

[https://www.researchgate.net/publication/275642599\\_EFECTO\\_DE\\_PASTEURIZACION\\_SOBRE\\_CARACTERISTICAS\\_SENSORIALES\\_Y\\_CONTENIDO\\_DE\\_VITAMINA\\_C\\_EN\\_JUGOS\\_DE\\_FRUTAS\\_EFFECT\\_OF\\_PASTEURIZATION\\_ON\\_SENSORY\\_CHARACTERISTICS\\_AND\\_CONTENT\\_OF\\_VITAMIN\\_C\\_IN\\_FRUIT\\_JUCES\\_EFE](https://www.researchgate.net/publication/275642599_EFECTO_DE_PASTEURIZACION_SOBRE_CARACTERISTICAS_SENSORIALES_Y_CONTENIDO_DE_VITAMINA_C_EN_JUGOS_DE_FRUTAS_EFFECT_OF_PASTEURIZATION_ON_SENSORY_CHARACTERISTICS_AND_CONTENT_OF_VITAMIN_C_IN_FRUIT_JUCES_EFE)

Xammar, O.J. de y Donnamaria, M.C. 2006. Acción Farmacológica, Biofisiológica y Estructura Dinámica de la Vitamina C. *Acta Farm. Bonaerense*. 25 (1): 145-54. Recuperado de: [http://www.latamjpharm.org/trabajos/25/1/LAJOP\\_25\\_1\\_6\\_1\\_508R9MF3CR.pdf](http://www.latamjpharm.org/trabajos/25/1/LAJOP_25_1_6_1_508R9MF3CR.pdf)

Yamazaki, M. y Chiba, K. 2008. Genipin exhibits neurotrophic effects through a common signaling pathway in nitric oxide synthase- expressing cells. *European Journal of Pharmacology*. V.581:255-261 págs. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.12.001>

Yanagimoto, K; Lee, K; Ochi, H. y Shibamoto, T. 2002. Antioxidant activity of heterocyclic compounds formed in Maillard reaction products. *International Congress Series* 1245 (2002) 335 – 340. Recuperado de: [https://doi.org/10.1016/S0531-5131\(02\)01007-5](https://doi.org/10.1016/S0531-5131(02)01007-5)

Yilmaz, Y., & Toledo, R. 2005. Antioxidant activity of water-soluble Maillard reaction products. *Food Chemistry*, 93(2), 273–278. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.09.043

## **VIII. ANEXOS**

## Anexo 1

### Métodos Analíticos

#### A) Determinación de vitamina C por el método Yodimétrico a macro escala

##### Preparación de Reactivos

###### *Solución de Yodo 0.1 N.- P.M. = 126.90g (12.96 en 100 L).*

- Disolver aproximadamente 14 g de yodo en una solución de 36 g de Yoduro de potasio en 100 mL de agua, adicionar 3 gotas de ácido clorhídrico, diluir con agua hasta 1000 ml, y estandarizar con la solución de tiosulfato de sodio 0.1N.
- Transferir 25 mL de solución de yodo a un erlenmeyer de 250 mL, diluir con agua a 100 mL y titular con tiosulfato de sodio 0.1 N vs hasta que la solución tenga un color amarillo pálido; adicionar 2 mL de almidón TS y continuar titulado hasta que la solución sea incolora.
- Calcular la normalidad.
- Preservar en contenedores color ámbar con tapón de vidrio.

###### *Solución de Tiosulfato de Sodio 0.1 N*

- Disolver aproximadamente 26 g de tiosulfato de sodio y 200 mg de Carbonato de sodio en 1000 mL de agua libre de dióxido de carbono.
- Estandarizar la solución como sigue:  
Pesar exactamente de 210 mg de estándar primario de dicromato de potasio previamente pulverizado y secado a 120°C por 4 horas,
  - Disolver en 100 mL de agua en un erlenmeyer de 500 mL con tapón esmerilado.
  - Agitar para disolver el sólido, retirar el tapón y agregar rápidamente 3 g de yoduro de potasio, 2 g de bicarbonato de sodio y 5 mL de ácido clorhídrico.
  - Tapar el erlenmeyer nuevamente, agitar para homogenizar y dejar reposando en la oscuridad por 10 minutos.
  - Enjuagar el tapón y las paredes internas del erlenmeyer con agua destilada y titular el yodo liberado con la solución de tiosulfato de sodio hasta que la solución se torne amarillo verdoso.
  - Adicionar 3 mL de solución de almidón TS y continuar la titulación hasta la desaparición de color azul de la solución.

- Calcular la normalidad.
- Reestandarizar la solución frecuentemente.

## **Procedimiento**

### ***Parte 1: Valoración de la disolución de tiosulfato de sodio***

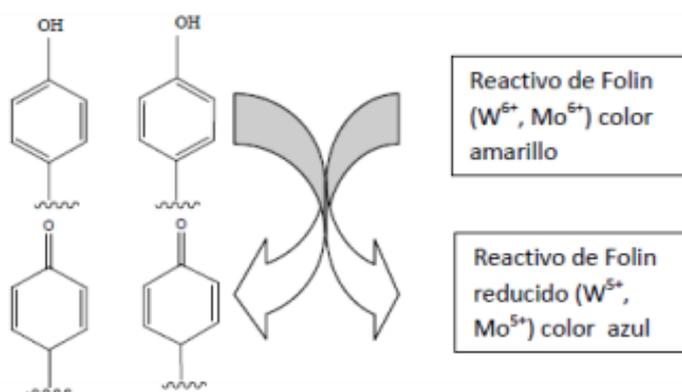
- Llena la bureta con la disolución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  aprox.  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$ .
- Coloca 25.00 mL de la disolución de  $\text{KIO}_3$  en un matraz Erlenmeyer.
- Añade 10 mL de disolución de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0.5 \text{ mol L}$
- Añadir todo el contenido de uno de los viales con 1 g de KI sólido y agita la mezcla hasta su disolución.
- Adicionar disolución de tiosulfato de sodio hasta que la disolución del matraz Erlenmeyer quede de color amarillo pálido.
- Añadir aprox. 2 mL del indicador de almidón.
- Siga adicionando disolución de tiosulfato de sodio hasta que se mantenga la desaparición del color azul al menos durante 15 segundos.
- Calcular la concentración ( $\text{mol L}^{-1}$ ) de la disolución de tiosulfato de sodio

### ***Parte 2: Determinación del contenido de vitamina C en la muestra***

- Colocar 25.00 mL de la muestra en un matraz Erlenmeyer.
- Añadir 10 mL de disolución de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0.5 \text{ mol L}^{-1}$
- Añadir todo el contenido de uno de los viales con 1 g de KI sólido y agitar la mezcla hasta su disolución.
- Colocar 25.00 mL de la disolución de  $\text{KIO}_3$  en el matraz Erlenmeyer.
- Adicionar desde la bureta 5 mL de disolución de tiosulfato de sodio.
- Añadir aprox. 2 mL del indicador de almidón.
- Seguir adicionando disolución de tiosulfato de sodio hasta que se mantenga la desaparición del color azul al menos durante 15 segundos.
- Anotar el volumen de disolución de tiosulfato de sodio consumido.
- Calcula la concentración ( $\text{mg}/100 \text{ mL}$ ) de vitamina C (Masa molar  $176.12 \text{ g mol}^{-1}$ ) en el zumo.

## B) Determinación de Polifenoles totales con el reactivo de Folin Ciocalteu (Romero, 2014)

**Fundamento del método:** los compuestos fenólicos de una muestra vegetal reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que medimos para evaluar el contenido en polifenoles; es un método preciso y sensible, que puede padecer numerosas variaciones, fundamentalmente en lo relativo a los volúmenes utilizados de la muestra a analizar, concentración de reactivos y tiempo de reacción (García, et al. s/f).



Mecanismo de acción del reactivo de Folin-Ciocalteu.

Fuente: García, et al. s/f

### Procedimiento:

- Pesar 1,2 mg de ácido gálico en 1,2 mL de agua destilada, se toma 1mL y se lleva a volumen final de 10 mL para tener una concentración de 100 ppm (solución stock). A cada una de las soluciones se agrega cada uno de los reactivos y se lleva a un volumen final de 10 mL en el siguiente orden:

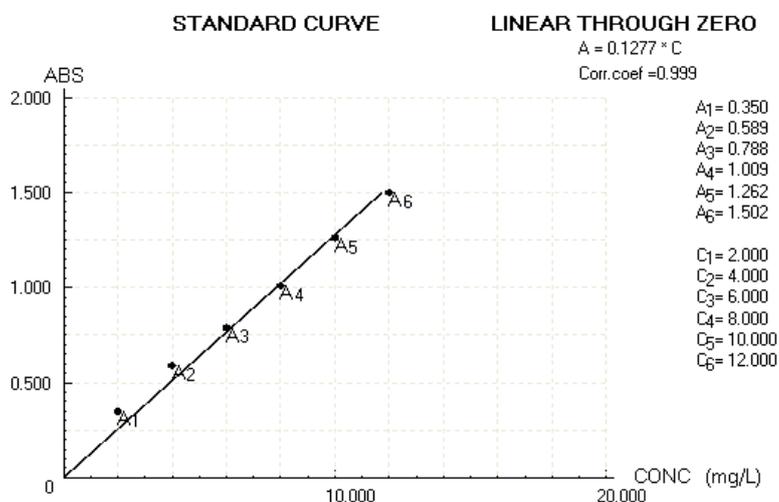
Solución	Agua	Rvo. Folin	Carbonato de
Stock	destilada	1N	sodio 20%
0,2 mL	8,8 mL	0,2 mL	0,8 mL
0,4 mL	8,6 mL	0,2 mL	0,8 mL
0,6 mL	8,4 mL	0,2 mL	0,8 mL
0,8 mL	8,2 mL	0,2 mL	0,8 mL
1,0 mL	8,0 mL	0,2 mL	0,8 mL
1,2 mL	7,8 mL	0,2 mL	0,8 mL

- A cada una de las soluciones agitar
- Dejar reposar por 30 min, en oscuridad
- Proceder a leer a 750 nm en celda de cuarzo

Para trabajar con la muestra:

- Pesara 0,02g de extracto seco de muestra disolver en 5 mL solvente Me: H<sub>2</sub>O (1:1)
- De esta solución tomar 0,5 mL y adicionar 4,5 mL de agua destilada
- Agitar y adicionarle 0,2 mL del Reactivo de Folin 1N, 0,8 mL de carbonato de sodio al 20%, volumen final 6 mL.
- Dejar reposar 30 min.
- Leer a 765 nm
- Calcular la concentración de polifenoles totales como (mgEAG/100g de muestra)

### Curva estándar para el Análisis de Polifenoles



### **C) Determinación de azúcares reductores por el método de Lane y Eynon (Pearson, 1976)**

Consiste en determinar el volumen de disolución de azúcar que se necesita para reducir 10 o 25 mL de disolución de Fehling en presencia de azul de metileno como indicador interno. El aire se elimina de la mezcla reaccionante manteniendo el líquido hirviendo durante la valoración.

**Equipo:** se emplea una bureta de 50 mL un matraz de 250 mL una cocinilla o mechero bunsen.

**Disolución de Fehling:** se prepara de la siguiente manera:

- Pesar 69,278 g de sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) por litro de agua, se filtra
- Pesar 346 g de sal de Rochelle ( $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) agregarle 100 g de hidróxido de sodio por litro de agua. Se filtra.
- Azul de metileno: preparar una solución al 1%

#### **Procedimiento:**

- Se pipetea 10 mL (o 25 mL) de la mezcla de Fehling en un matraz de 250 mL y se añade la disolución de azúcar en la bureta. Se agita el líquido moviendo en redondo el matraz, se calienta en la cocinilla y después de que el líquido haya hervido moderadamente durante 1 ½ a 2 minutos se añaden 4 gotas de azul de metileno. Se añade disolución de azúcar a razón de 0,25 mL cada 15 segundos y se termina la valoración dentro de los tres minutos desde el comienzo de la ebullición.

#### **Notas:**

- (a) La ebullición se debe mantener durante toda la valoración
- (b) Si el sulfato de cobre se reduce totalmente, lo cual se comprueba por la desaparición del color azul, se repite la valoración con una disolución más diluida de la muestra o se utilizan 25 mL de disolución de Fehling en lugar de 10 mL.

#### **Normalización de la disolución de Fehling:**

En un vaso de 300 mL se disuelven 2,375 g de sacarosa (desechada a 100°C) en unos 130 mL de agua, se añaden 15 mL de ácido clorhídrico 1N y se hierve la mezcla durante 2 minutos. Se enfría, se añaden 2 gotas de disolución de fenolftaleína, se neutraliza exactamente con hidróxido de sodio al 10%, se pasa cuidadosamente a un matraz aforado de 500 mL y se enrasa con agua. La disolución se valora según el método antes descrito, empleando 10 mL de disolución de Fehling.

1 mL de disolución patrón de azúcar invertido = 0,00475 g de sacarosa = 0,005 g de azúcar invertido.

10 mL de disolución de Fehling = 10,5 mL de disolución patrón de azúcar invertido.

Cálculo del contenido de azúcar:

$$\text{Azúcar (mg)/100 mL de disolución} = \frac{\text{Factor} \times 10}{\text{Valoración (mL)}}$$

Además, la sacarosa puede convertirse en azúcar invertido antes de la valoración, y entonces:

Concentración de sacarosa = azúcar invertido x 0,95

## Anexo 2

### Análisis de Genipina y Acido Geniposidico por cromatografía de UHPLC

#### Tratamiento de Muestra

**Fruto:** se cortó en dos partes, se retiró las semillas y se cortó en láminas delgadas. Se tomó 5 g y se molió en agua (100 mL) hasta obtener un puré, se extrajo con 4 x 25 mL de acetato de etilo; se reunieron los extractos de acetato de etilo y se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y concentró a sequedad, se disolvió en 2 mL de metanol, se filtró sobre 0.45 µm.

**Extractos:** se tomó un volumen de 25 mL y se extrajo con 4 x 25 mL de acetato de etilo, se reunieron los extractos de acetato de etilo y se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y concentró a sequedad, se disolvió en 5 mL de metanol, se filtró sobre 0.45 µm.

#### Análisis por UHPLC – DAD – 3000RS

**Método:** Se utilizó el método según Chen et al. (2008) (Simultaneous determination of geniposide and its metabolites genipin and genipinin in culture of *Aspergillus niger* by HPLC. *Biomed. Chromatogr.*, 22: 753-757).

**Estándares:** soluciones de cada estándar (genipina y ácido geniposidico) entre 0.2 y 100 µg/mL en metanol.

**Columna HPLC:** Luna C18, 150 x 4.6 mm, 5 µm

**Temperatura de trabajo:** 28 °C se mantuvo temperatura constante.

**Fases móviles:** A: 1% de ácido fórmico en acetonitrilo, v/v.

B: 1% de ácido fórmico en agua, v/v.

**Gradiente:** 0 – 10 min, 4 a 70% de A; 10 – 15 min, 70 a 90% de A; 15 – 20 min, 90% de B, 20 – 35 min. 90 a 4% A; 35 – 40 min, 4% de B

**Flujo:** 1.0 mL/min

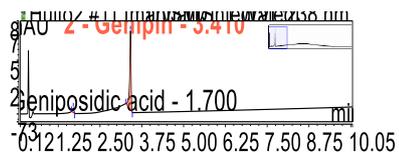
**Longitud de onda:** 238 nm.

La muestra fue filtrada en un filtro membrana de 0,45 µm

**Desarrollo del método:** Los efectos del ácido fórmico sobre la columna da resultados satisfactorios, ya que este ácido no daña la columna empleada y no dan picos interferentes.

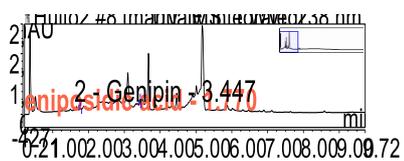
### Cromatogramas de Genipina y ácido Geniposídico

a) Cromatograma del estándar de Genipina y Ac. Geniposídico

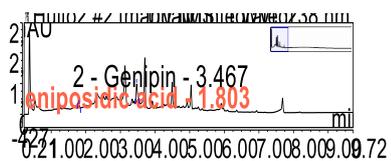


b) Cromatogramas de Genipina y ácido Geniposido en las muestras:

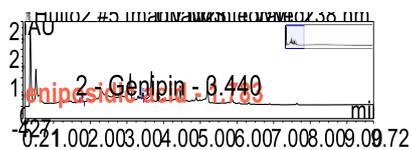
b.1. Del Fruto in natura



### b.2 Del extracto sin pasteurizar (recién extraído)



### b.3. Del extracto pasteurizado



### Anexo 3

## NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO

...//...

<b>15. COMIDAS PREPARADAS</b>						
<b>15.1 Comidas Preparadas sin tratamiento térmico (ensaladas crudas, mayonesas, salsa de papa huancaina, ocopa, postres, jugos, otros). Comidas preparadas que llevan ingredientes con y sin tratamiento térmico (ensaladas mixtas, palta rellena, sándwiches, cebiche, postres, refrescos, otros).</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g. ó mL	
					m	M
Aerobios Mesófilos	2	3	5	2	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>
Coliformes	5	3	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> .	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10 <sup>4</sup>
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia/25 g	-----
<b>15.2 Comidas preparadas con tratamiento térmico (ensaladas cocidas, guisos, arroces, postres cocidos, arroz con leche, mazamorra, otros)</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g. ó mL	
					m	M
Aerobios Mesófilos	2	3	5	2	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>
Coliformes	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> .	6	3	5	1	10	10 <sup>2</sup>
<i>Escherichia coli</i>	6	3	5	1	< 3	-----
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia/25 g	-----
<b>16. BEBIDAS.</b>						
<b>16.1 Bebidas jarabeadas y no jarabeadas carbonatadas.</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por mL	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10	50
Mohos	2	3	5	2	5	10
Levaduras	2	3	5	2	10	30
<b>16.2 Bebidas jarabeadas y no jarabeadas no carbonatadas (zumos, néctares, extractos y productos concentrados)</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por mL	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
Mohos	2	3	5	2	1	10
Levaduras	2	3	5	2	1	10
Coliformes	5	2	5	0	< 2.2	-----
<b>16.3 Agua mineral, Agua de mesa, hielo.</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por mL	

...//...

## Anexo 4

### A. Análisis estadístico de los compuestos bioactivos en los tratamientos

#### 1. Modelo lineal general: **Vitamina C** vs. tratamiento 1; tratamiento 2

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
tratamiento 1	Fijo	2	c/c; s/c
tratamiento 2	Fijo	2	p; s/p

#### Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
tratamiento 1	1	0.011907	0.011907	0.76	0.395
tratamiento 2	1	0.652327	0.652327	41.87	0.000
tratamiento 1*tratamiento 2	1	0.001656	0.001656	0.11	0.749
Error	16	0.249265	0.015579		
Total	19	0.915156			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.124816	72.76%	67.66%	57.44%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	0.6791	0.0279	24.33	0.000	
tratamiento 1 c/c	0.0244	0.0279	0.87	0.395	1.00
tratamiento 2 p	-0.1806	0.0279	-6.47	0.000	1.00
tratamiento 1*tratamiento 2 c/c p	0.0091	0.0279	0.33	0.749	1.00

Ecuación de regresión

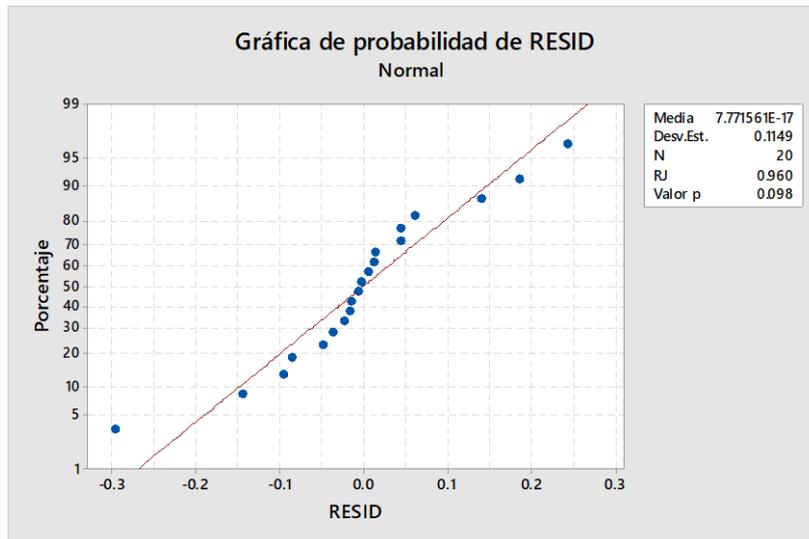
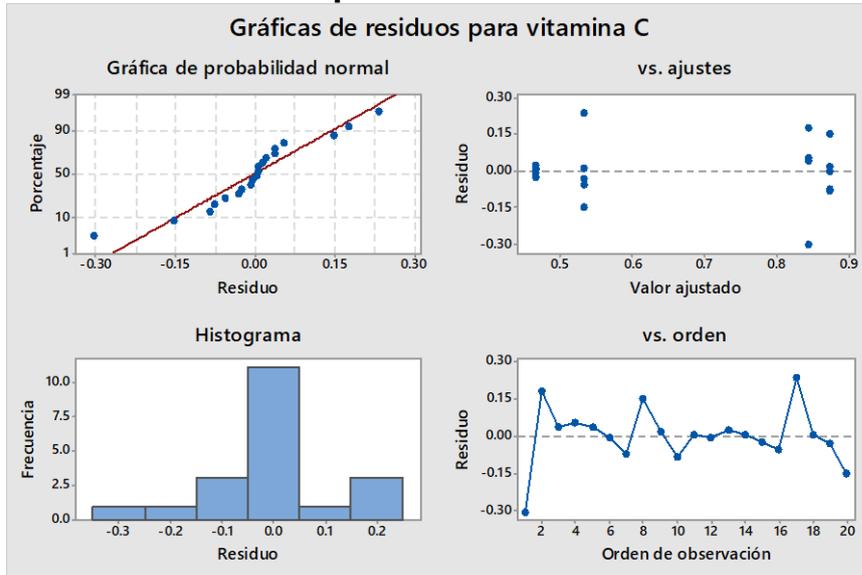
$$\begin{aligned} \text{vitamina C} = & 0.6791 + 0.0244 \text{ tratamiento 1\_c/c} - 0.0244 \text{ tratamiento 1\_s/c} \\ & - 0.1806 \text{ tratamiento 2\_p} + 0.1806 \text{ tratamiento 2\_s/p} \\ & + 0.0091 \text{ tratamiento 1*tratamiento 2\_c/c p} \\ & - 0.0091 \text{ tratamiento 1*tratamiento 2\_c/c s/p} \\ & - 0.0091 \text{ tratamiento 1*tratamiento 2\_s/c p} \\ & + 0.0091 \text{ tratamiento 1*tratamiento 2\_s/c s/p} \end{aligned}$$

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco comunes

Obs	vitamina C	Ajuste	Resid	Resid est.	
1	0.5400	0.8444	-0.3044	-2.73	R
17	0.7670	0.5320	0.2350	2.10	R

Residuo grande R

## Gráficas de residuos para vitamina C



## Prueba de varianzas iguales: RESID vs. tratamiento 1; tratamiento 2

Método

Hipótesis nula            Todas las varianzas son iguales  
 Hipótesis alterna        Por lo menos una varianza es diferente  
 Nivel de significancia    $\alpha = 0.05$

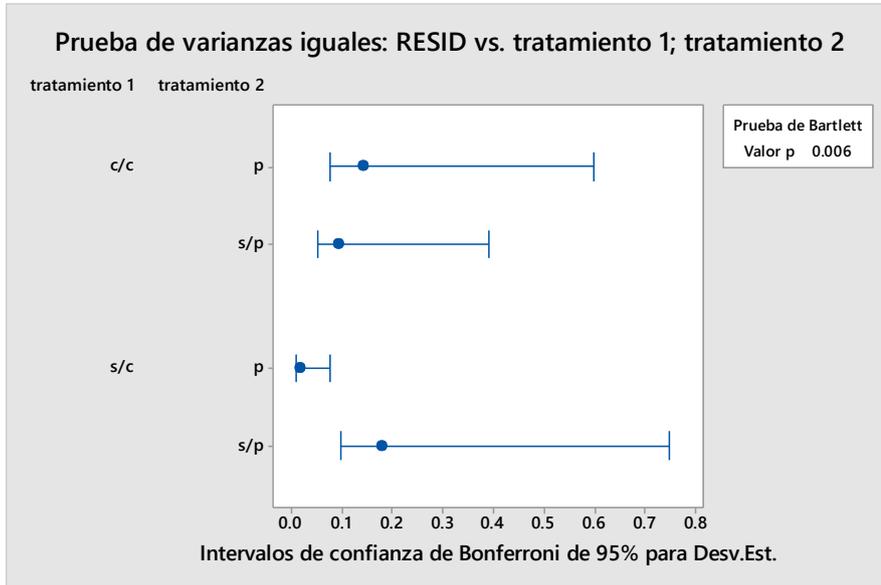
Se utiliza el método de Bartlett. Este método es exacto sólo para datos normales.

Intervalos de confianza de Bonferroni de 95% para desviaciones estándar

tratamiento 1	tratamiento 2	N	Desv.Est.	IC
c/c	p	5	0.143734	(0.0758788; 0.596318)
c/c	s/p	5	0.094340	(0.0498030; 0.391393)
s/c	p	5	0.017847	(0.0094214; 0.074041)
s/c	s/p	5	0.180106	(0.0950801; 0.747217)

Nivel de confianza individual = 98.75%  
 Pruebas

	Estadística	
Método	de prueba	Valor p
Bartlett	12.44	0.006

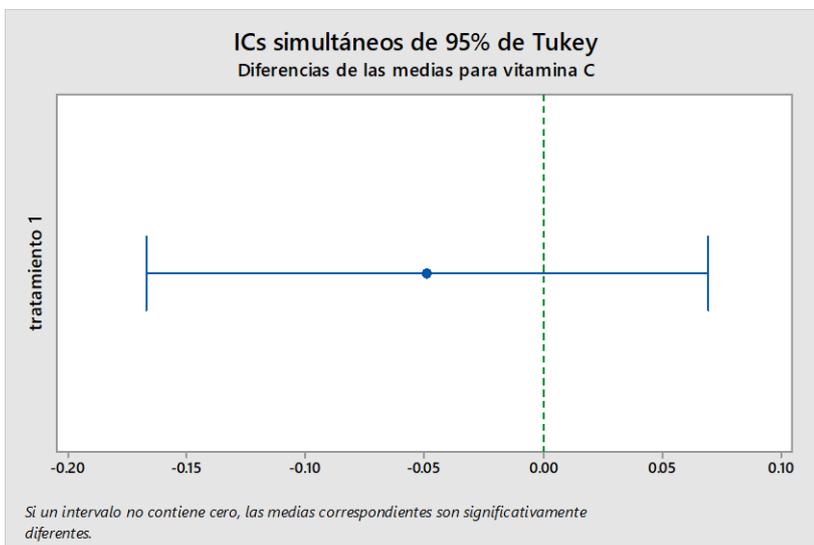


### Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = vitamina C, Término = tratamiento 1

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

tratamiento 1	N	Media	Agrupación
c/c	10	0.7035	A
s/c	10	0.6547	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



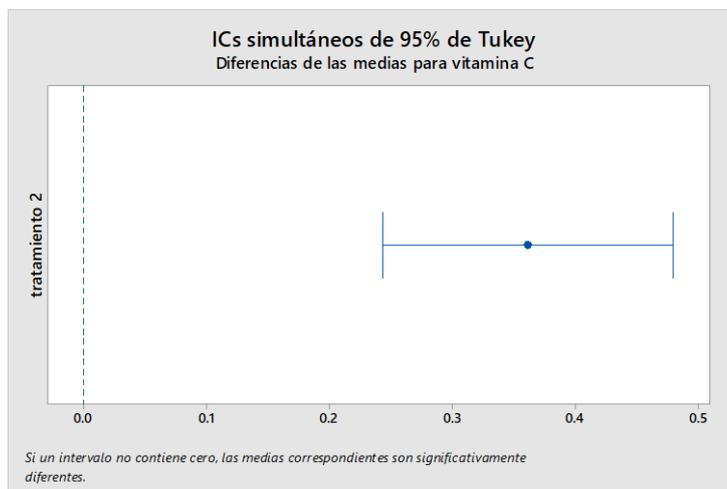
## Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = vitamina C, Término = tratamiento 2

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

tratamiento 2	N	Media	Agrupación
s/p	10	0.8597	A
p	10	0.4985	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

## ICs simultáneos de 95% de Tukey



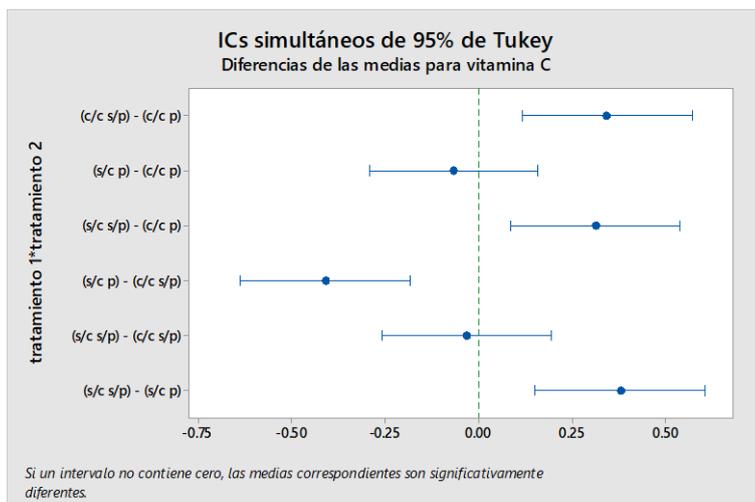
## Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = vitamina C, Término = tratamiento 1\*tratamien

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

tratamiento	N	Media	Agrupación
1*tratamiento 2	5	0.8750	A
c/c s/p	5	0.8444	A
s/c s/p	5	0.5320	B
c/c p	5	0.4650	B
s/c p	5	0.4650	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

## ICs simultáneos de 95% de Tukey



## 2. Modelo lineal general: Polifenoles vs. tratamiento 1; tratamiento 2

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
tratamiento 1	Fijo	2	c/c; s/c
tratamiento 2	Fijo	2	p; s/p

### Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
tratamiento 1	1	3.76	3.76	0.12	0.729
tratamiento 2	1	1266.12	1266.12	41.90	0.000
tratamiento 1*tratamiento 2	1	13.60	13.60	0.45	0.512
Error	16	483.53	30.22		
Total	19	1767.00			

Resumen del modelo

S	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
5.49734	72.64%	67.50%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	123.77	1.23	100.68	0.000	
tratamiento 1					
c/c	0.43	1.23	0.35	0.729	1.00

tratamiento 2					
p	-7.96	1.23	-6.47	0.000	1.00
tratamiento 1*tratamiento 2					
c/c p	-0.82	1.23	-0.67	0.512	1.00

Ecuación de regresión

$$\text{polifenoles} = 123.77 + 0.43 \text{ tratamiento } 1\_c/c - 0.43 \text{ tratamiento } 1\_s/c$$

$$- 7.96 \text{ tratamiento } 2\_p$$

$$+ 7.96 \text{ tratamiento } 2\_s/p - 0.82 \text{ tratamiento } 1*\text{tratamiento } 2\_c/c p$$

$$+ 0.82 \text{ tratamiento } 1*\text{tratamiento } 2\_c/c s/p$$

$$+ 0.82 \text{ tratamiento } 1*\text{tratamiento } 2\_s/c p$$

$$- 0.82 \text{ tratamiento } 1*\text{tratamiento } 2\_s/c$$

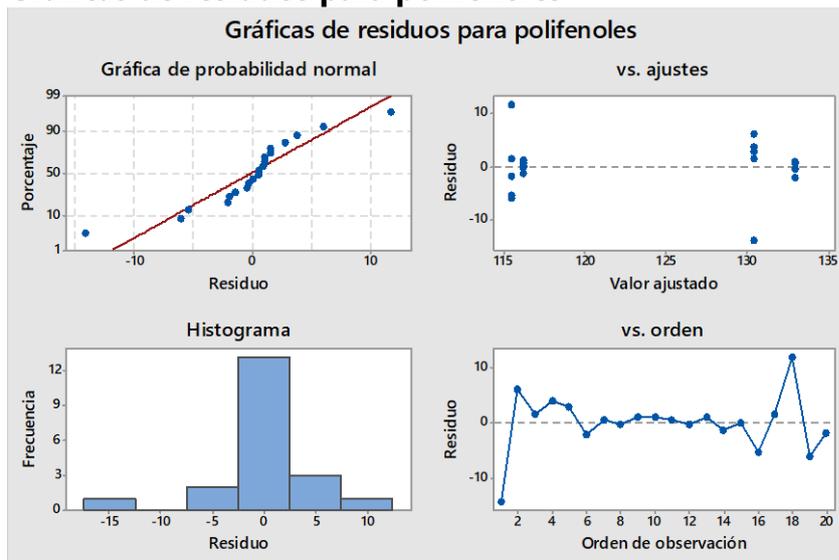
$$s/p$$

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco comunes

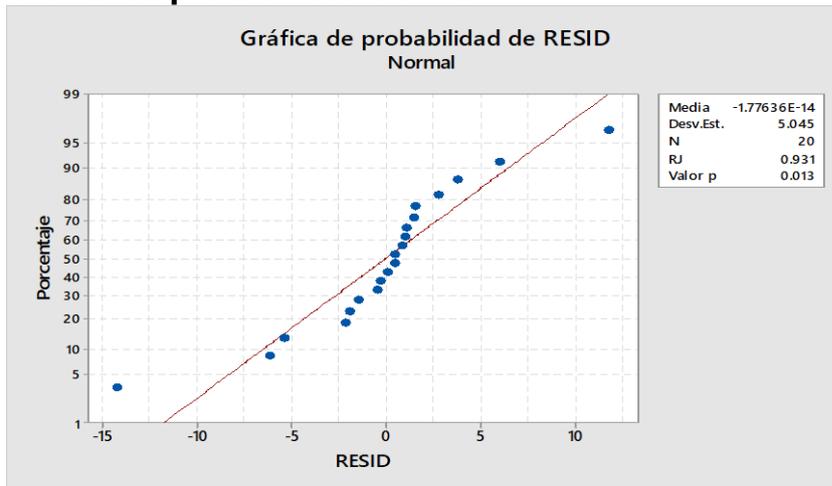
Obs	polifenoles	Ajuste	Resid	Resid	
			est.		
1	116.29	130.46	-14.17	-2.88	R
18	127.22	115.42	11.80	2.40	R

Residuo grande R

## Gráficas de residuos para polifenoles



## Gráfica de probabilidad de RESID



## Prueba de varianzas iguales: RESID vs. tratamiento 1; tratamiento 2

Método

Hipótesis nula                    Todas las varianzas son iguales  
 Hipótesis alterna                Por lo menos una varianza es diferente  
 Nivel de significancia         $\alpha = 0.05$

Se utiliza el método de Bartlett. Este método es exacto sólo para datos normales.

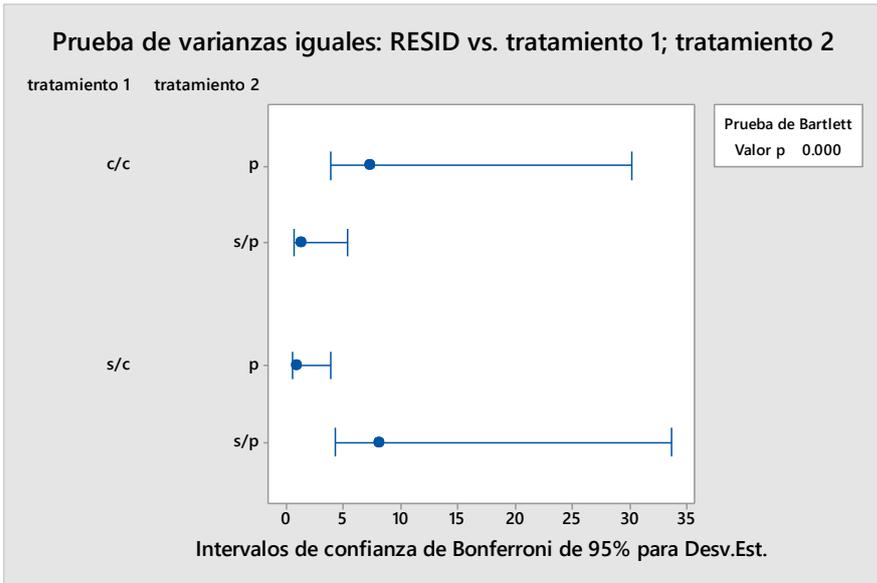
Intervalos de confianza de Bonferroni de 95% para desviaciones estándar

tratamiento 1	tratamiento 2	N	Desv.Est.	IC
c/c	p	5	7.26454	(3.83503; 30.1388)
c/c	s/p	5	1.28725	(0.67955; 5.3405)
s/c	p	5	0.93808	(0.49522; 3.8919)
s/c	s/p	5	8.09768	(4.27486; 33.5953)

Nivel de confianza individual = 98.75%

Pruebas

Método	Estadística de prueba	Valor p
Bartlett	18.50	0.000



**Comparaciones para polifenoles**

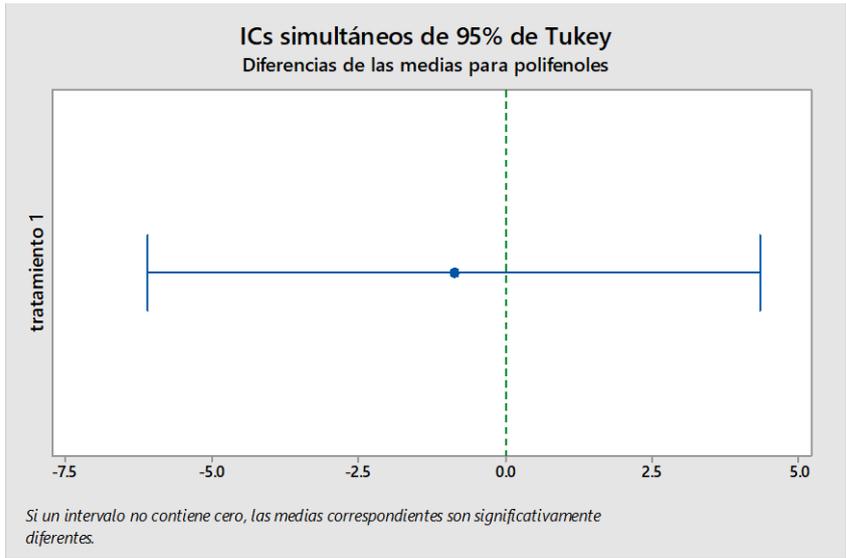
**Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = polifenoles, Término = tratamiento 1**

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

tratamiento 1	N	Media	Agrupación
c/c	10	124.199	A
s/c	10	123.332	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

**ICs simultáneos de 95% de Tukey**



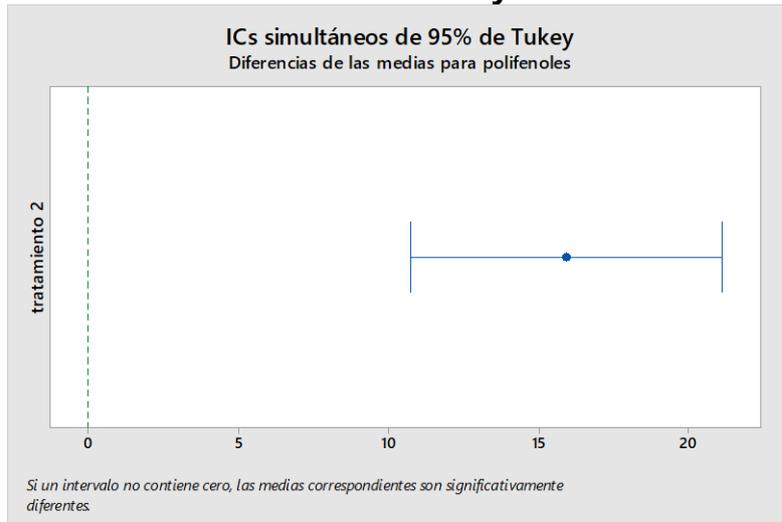
## Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = polifenoles, Término = tratamiento 2

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

tratamiento 2	N	Media	Agrupación
s/p	10	131.722	A
p	10	115.809	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

### ICs simultáneos de 95% de Tukey



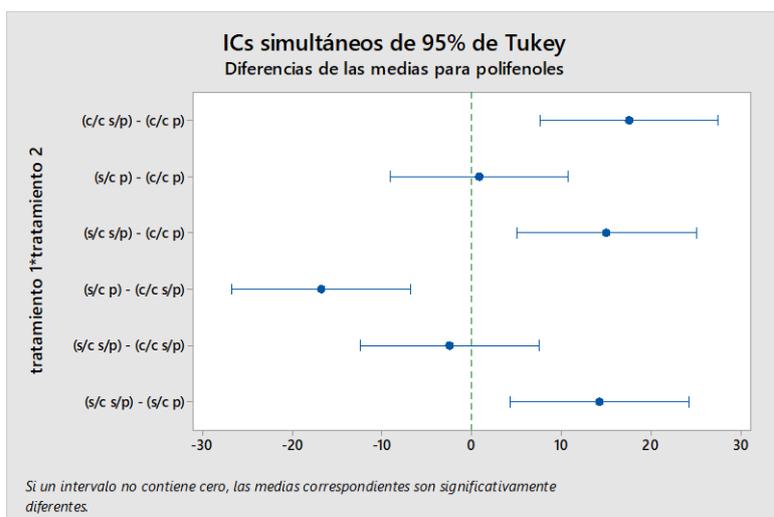
## Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = polifenoles, Término = tratamiento 1\*tratamiento 2

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

tratamiento	N	Media	Agrupación
1*tratamiento 2	5	132.980	A
c/c s/p	5	130.464	A
s/c s/p	5	130.464	A
s/c p	5	116.200	B
c/c p	5	115.418	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

## ICs simultáneos de 95% de Tukey



### 3. Modelo lineal general: Capacidad Antioxidante vs. tratamiento 1; tratamiento 2

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
tratamiento 1	Fijo	2	c/c; s/c
tratamiento 2	Fijo	2	p; s/p

#### Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
tratamiento 1	1	22.324	22.324	98.03	0.000
tratamiento 2	1	861.591	861.591	3783.30	0.000
tratamiento 1*tratamiento 2	1	2.775	2.775	12.19	0.003
Error	16	3.644	0.228		
Total	19	890.333			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.477216	99.59%	99.51%	99.36%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	2005.23	0.11	18791.60	0.000	
tratamiento 1 c/c	1.056	0.107	9.90	0.000	1.00
tratamiento 2 p	6.564	0.107	61.51	0.000	1.00

```

tratamiento 1*tratamiento 2
c/c p          0.373   0.107   3.49   0.003   1.00

```

Ecuación de regresión

```

cap.Antiox. = 2005.23 + 1.056 tratamiento 1_c/c - 1.056 tratamiento 1_s/c
              + 6.564 tratamiento 2_p - 6.564 tratamiento 2_s/p
              + 0.373 tratamiento 1*tratamiento 2_c/c p
              - 0.373 tratamiento 1*tratamiento 2_c/c s/p
              - 0.373 tratamiento 1*tratamiento 2_s/c p
              + 0.373 tratamiento 1*tratamiento 2_s/c s/p

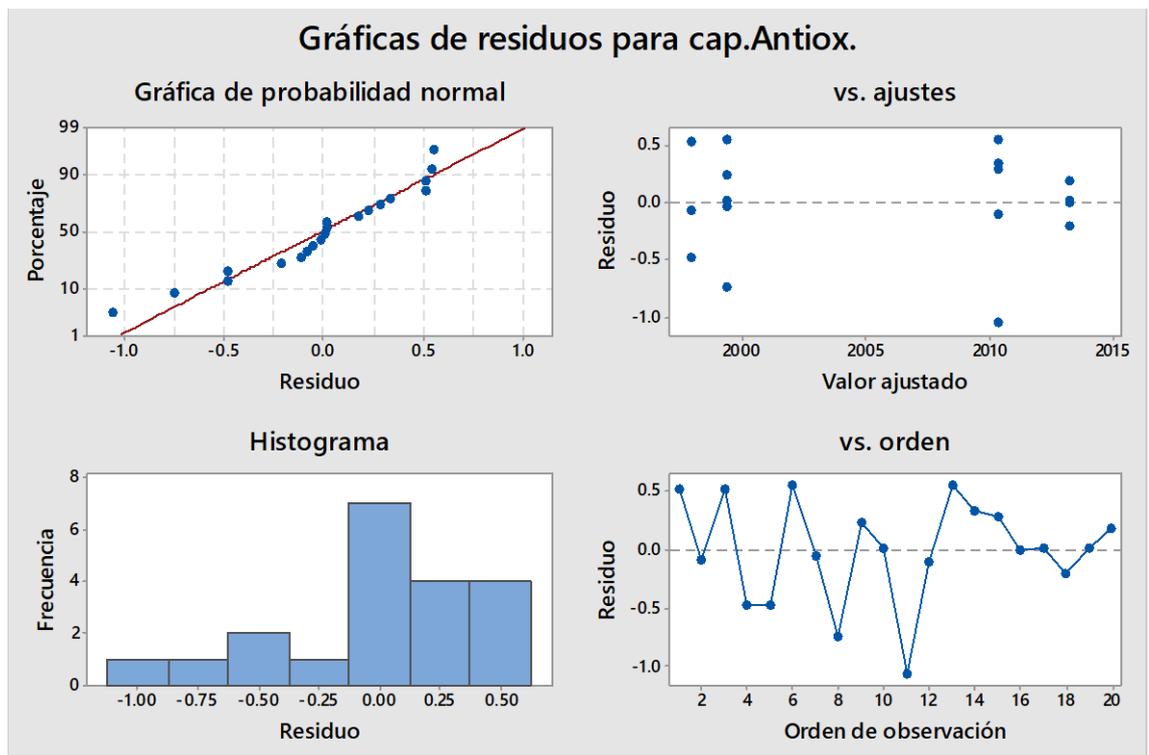
```

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco comunes

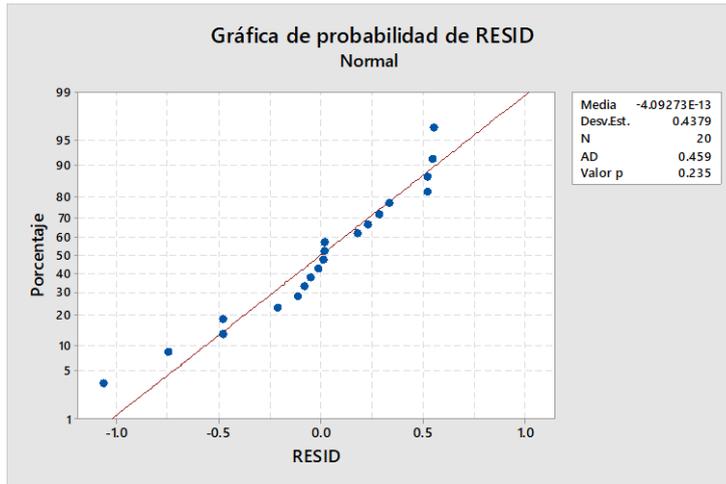
Obs	cap.Antiox.	Ajuste	Resid	Resid est.
11	2009.30	2010.36	-1.06	-2.49 R

Residuo grande R

### Gráficas de residuos para cap.Antiox.



Para la normalidad del error



**Para la homogeneidad de las varianzas**

Método

Hipótesis nula                    Todas las varianzas son iguales  
 Hipótesis alterna                Por lo menos una varianza es diferente  
 Nivel de significancia     $\alpha = 0.05$

Se utiliza el método de Bartlett. Este método es exacto sólo para datos normales.

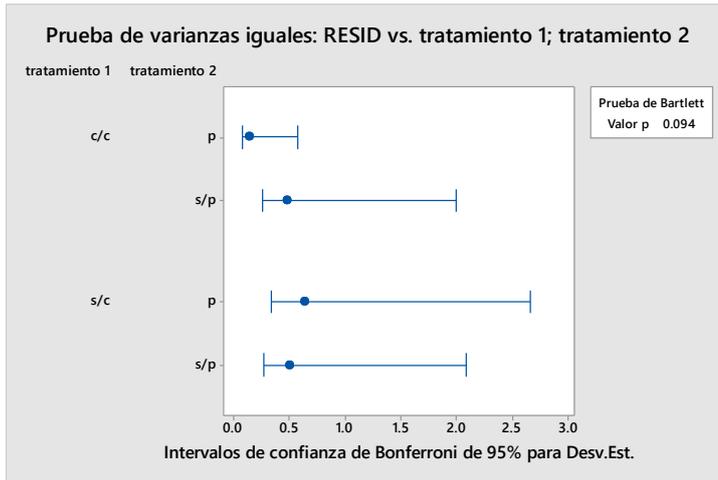
Intervalos de confianza de Bonferroni de 95% para desviaciones estándar

tratamiento 1	tratamiento 2	N	Desv.Est.	IC
c/c	p	5	0.139104	(0.073435; 0.57711)
c/c	s/p	5	0.479708	(0.253243; 1.99019)
s/c	p	5	0.639898	(0.337809; 2.65478)
s/c	s/p	5	0.501996	(0.265009; 2.08266)

Nivel de confianza individual = 98.75%

Pruebas

Método	Estadística de prueba	Valor p
Bartlett	6.40	0.094



Al haberse rechazado la hipótesis nula se realiza la prueba de comparaciones múltiples de Tukey para ver la significancia.

### Comparaciones para cap.Antiox.

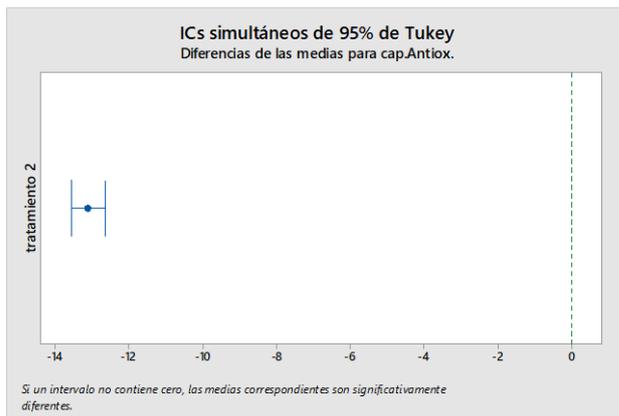
### Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = cap.Antiox., Término = tratamiento 1

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

tratamiento 1	N	Media	Agrupación
c/c	10	2006.28	A
s/c	10	2004.17	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

### ICs simultáneos de 95% de Tukey



## Comparaciones para cap.Antiox.

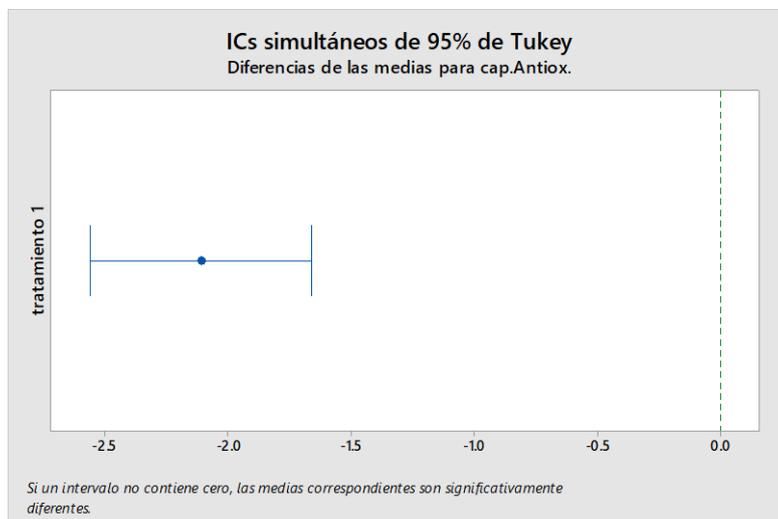
### Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = cap.Antiox., Término = tratamiento 2

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

tratamiento 2	N	Media	Agrupación
p	10	2011.79	A
s/p	10	1998.66	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

### ICs simultáneos de 95% de Tukey



## 4. Modelo lineal general: Genipina vs. tratamiento 1; tratamiento 2

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
tratamiento 1	Fijo	2	c/c; s/c
tratamiento 2	Fijo	2	p; s/p

### Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
tratamiento 1	1	0.0002	0.0002	0.05	0.827
tratamiento 2	1	11.1602	11.1602	3045.07	0.000
tratamiento 1*tratamiento 2	1	0.0065	0.0065	1.77	0.202
Error	16	0.0586	0.0037		
Total	19	11.2255			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0605392	99.48%	99.38%	99.18%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	1.1760	0.0135	86.87	0.000	
tratamiento 1 c/c	-0.0030	0.0135	-0.22	0.827	1.00
tratamiento 2 p	-0.7470	0.0135	-55.18	0.000	1.00
tratamiento 1*tratamiento 2 c/c p	-0.0180	0.0135	-1.33	0.202	1.00

Ecuación de regresión

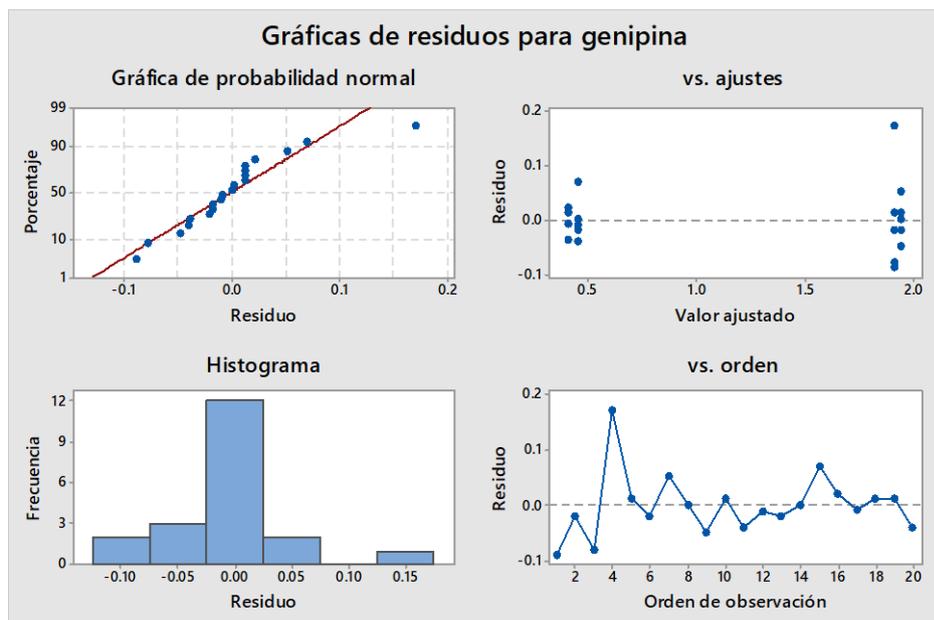
$$\begin{aligned}
 \text{genipina} = & 1.1760 - 0.0030 \text{ tratamiento } 1_{c/c} + 0.0030 \text{ tratamiento } 1_{s/c} \\
 & - 0.7470 \text{ tratamiento } 2_p + 0.7470 \text{ tratamiento } 2_{s/p} \\
 & - 0.0180 \text{ tratamiento } 1 * \text{tratamiento } 2_{c/c} p \\
 & + 0.0180 \text{ tratamiento } 1 * \text{tratamiento } 2_{c/c} s/p \\
 & + 0.0180 \text{ tratamiento } 1 * \text{tratamiento } 2_{s/c} p \\
 & - 0.0180 \text{ tratamiento } 1 * \text{tratamiento } 2_{s/c} s/p
 \end{aligned}$$

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco comunes

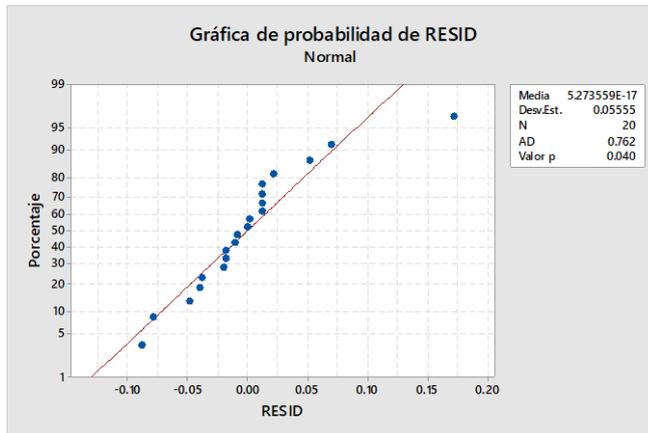
Obs	genipina	Ajuste	Resid	Resid est.	R
4	2.0800	1.9080	0.1720	3.18	R

Residuo grande R

**Gráficas de residuos para genipina**



Para la normalidad de los errores



Para la homogeneidad de las varianzas

## Prueba de varianzas iguales: RESID vs. tratamiento 1; tratamiento 2

Método

Hipótesis nula Todas las varianzas son iguales  
 Hipótesis alterna Por lo menos una varianza es diferente  
 Nivel de significancia  $\alpha = 0.05$

Se utiliza el método de Bartlett. Este método es exacto sólo para datos normales.

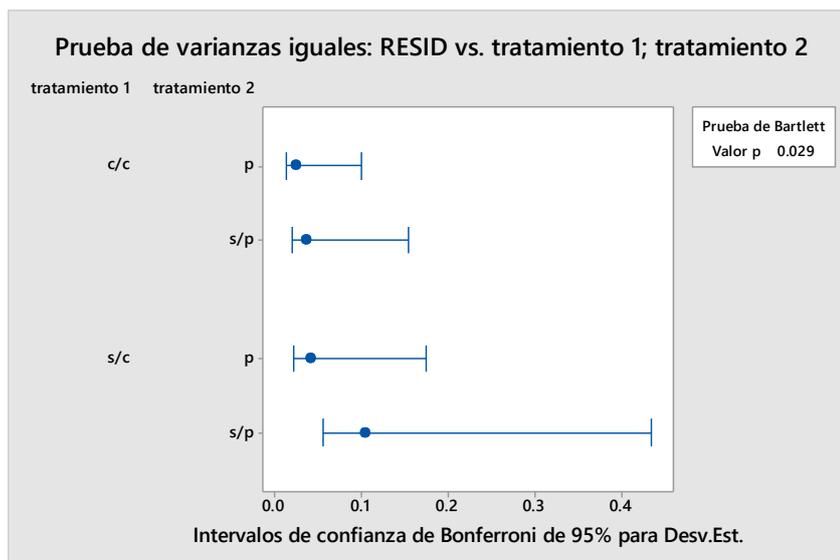
Intervalos de confianza de Bonferroni de 95% para desviaciones estándar

tratamiento 1	tratamiento 2	N	Desv.Est.	IC
c/c	p	5	0.023875	(0.0126037; 0.099050)
c/c	s/p	5	0.037014	(0.0195398; 0.153560)
s/c	p	5	0.041833	(0.0220841; 0.173555)
s/c	s/p	5	0.104738	(0.0552922; 0.434531)

Nivel de confianza individual = 98.75%

Pruebas

Método	Estadística de prueba	Valor p
Bartlett	9.01	0.029



Interacciones con el cuadro de arriba

### Comparaciones para genipina

Al salir el pvalor menor a 0,05 se realiza el test de comparaciones múltiples de Tukey para el tratamiento 1 y tratamiento 2

### Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = genipina, Término = tratamiento 1

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

tratamiento 1	N	Media	Agrupación
s/c	10	1.179	A
c/c	10	1.173	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

### ICs simultáneos de 95% de Tukey

### Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = genipina, Término = tratamiento 2

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

tratamiento 2	N	Media	Agrupación
s/p	10	1.923	A
p	10	0.429	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

## ICs simultáneos de 95% de Tukey

### 5. Modelo lineal general: ac geniposidico vs. tratamiento 1; tratamiento 2

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
tratamiento 1	Fijo	2	c/c; s/c
tratamiento 2	Fijo	2	p; s/p

#### Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
tratamiento 1	1	0.000180	0.000180	0.01	0.911
tratamiento 2	1	0.392000	0.392000	27.94	0.000
tratamiento 1*tratamiento 2	1	0.001280	0.001280	0.09	0.767
Error	16	0.224520	0.014033		
Total	19	0.617980			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.118459	63.67%	56.86%	43.23%

Coefficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	VIF
Constante	1.8110	0.0265	68.37	0.000	
tratamiento 1 c/c	-0.0030	0.0265	-0.11	0.911	1.00
tratamiento 2 p	-0.1400	0.0265	-5.29	0.000	1.00
tratamiento 1*tratamiento 2 c/c p	-0.0080	0.0265	-0.30	0.767	1.00

Ecuación de regresión

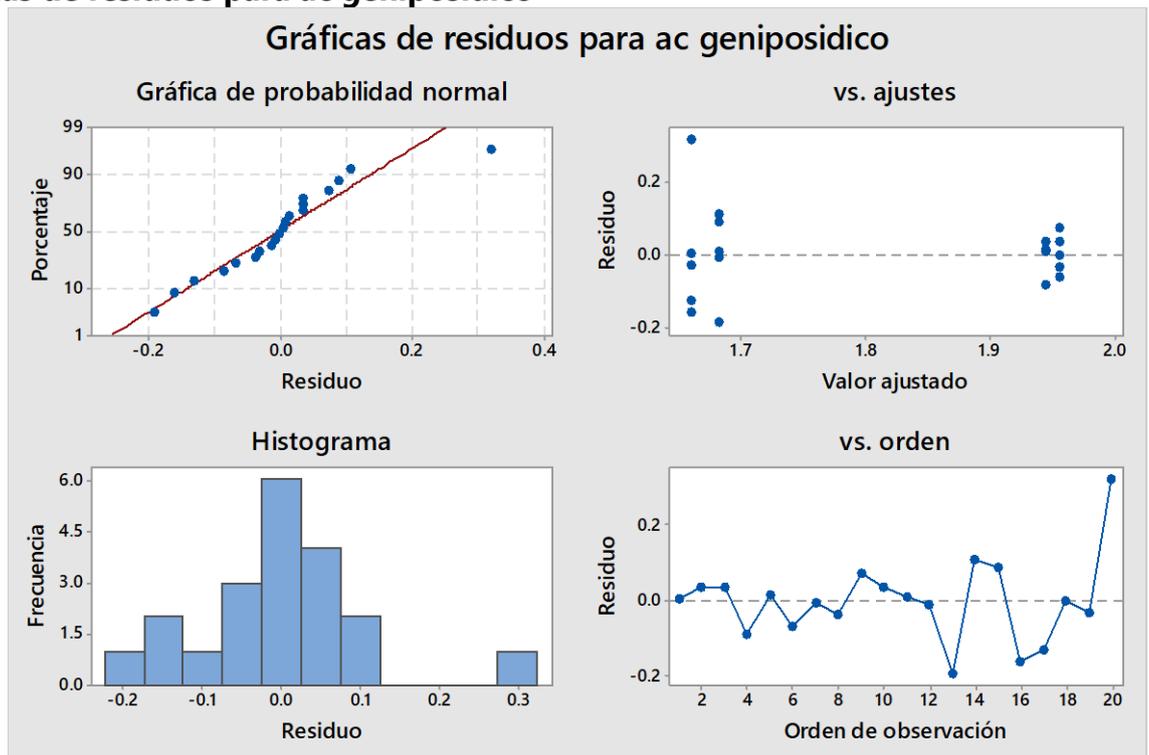
$$\begin{aligned} \text{ac geniposidico} = & 1.8110 - 0.0030 \text{ tratamiento 1\_c/c} + 0.0030 \text{ tratamiento 1\_s/c} \\ & - 0.1400 \text{ tratamiento 2\_p} + 0.1400 \text{ tratamiento 2\_s/p} \\ & - 0.0080 \text{ tratamiento 1*tratamiento 2\_c/c p} \\ & + 0.0080 \text{ tratamiento 1*tratamiento 2\_c/c s/p} \\ & + 0.0080 \text{ tratamiento 1*tratamiento 2\_s/c p} \\ & - 0.0080 \text{ tratamiento 1*tratamiento 2\_s/c s/p} \end{aligned}$$

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco comunes

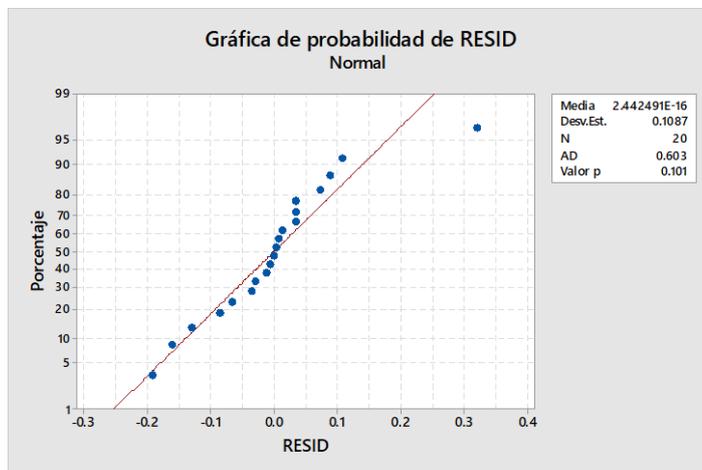
Obs	ac geniposidico	Ajuste	Resid	Resid est.	R
20	1.9800	1.6600	0.3200	3.02	R

Residuo grande R

## Gráficas de residuos para ac geniposidico



Para la normalidad del error



## Prueba de varianzas iguales: RESID vs. tratamiento 1; tratamiento 2

Método

Hipótesis nula                    Todas las varianzas son iguales  
 Hipótesis alterna                Por lo menos una varianza es diferente  
 Nivel de significancia         $\alpha = 0.05$

Se utiliza el método de Bartlett. Este método es exacto sólo para datos normales.

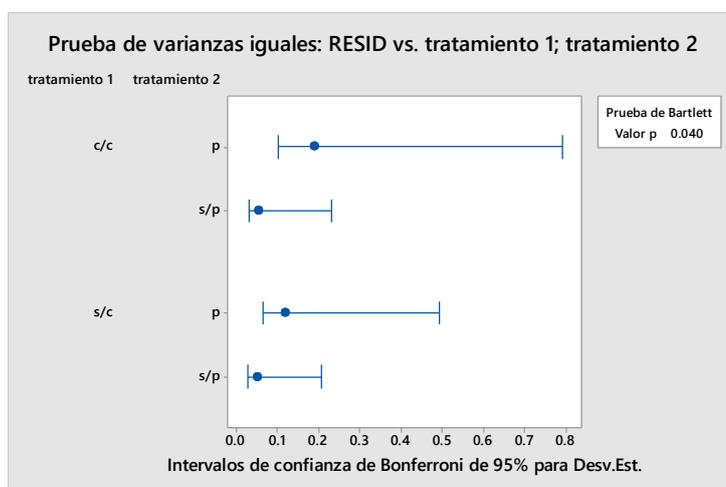
Intervalos de confianza de Bonferroni de 95% para desviaciones estándar

tratamiento 1	tratamiento 2	N	Desv.Est.	IC
c/c	p	5	0.190919	(0.100788; 0.792076)
c/c	s/p	5	0.055498	(0.029298; 0.230247)
s/c	p	5	0.118828	(0.062730; 0.492987)
s/c	s/p	5	0.049800	(0.026290; 0.206606)

Nivel de confianza individual = 98.75%

Pruebas

Método	Estadística de prueba	Valor p
Bartlett	8.29	0.040



Para la interacción

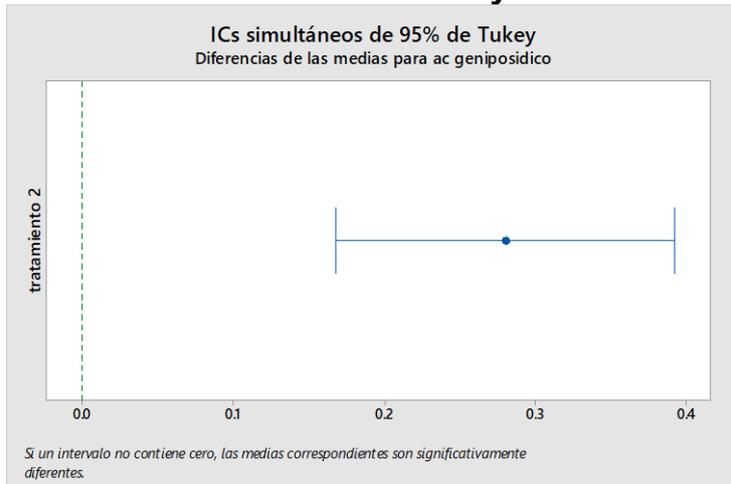
## Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = ac geniposidico, Término = tratamiento 1

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

tratamiento 1	N	Media	Agrupación
s/c	10	1.814	A
c/c	10	1.808	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

## ICs simultáneos de 95% de Tukey



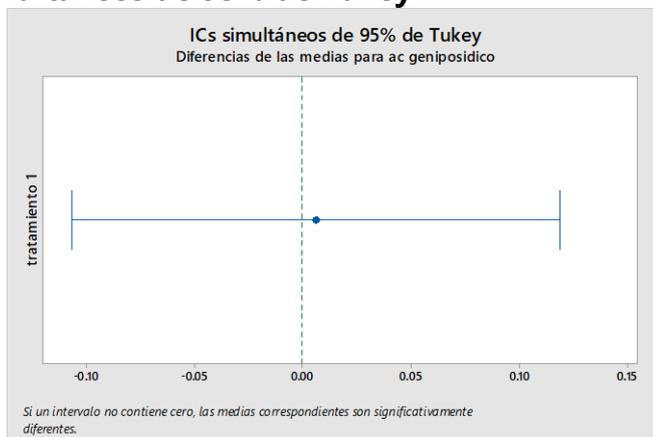
## Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = ac geniposidico, Término = tratamiento 2

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

tratamiento 2	N	Media	Agrupación
s/p	10	1.951	A
p	10	1.671	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

## ICs simultáneos de 95% de Tukey



## B. Análisis estadístico del efecto del procesamiento sobre la Capacidad Antioxidante y los Compuestos bioactivos

### Capacidad antioxidante

#### Hipótesis

$$H_0: \mu_{Fruto} = \mu_{Ext.s.p} = \mu_{Ext.c.p}$$

$H_1$ : Al menos un  $\mu_i$  es distinto

#### Estadístico de prueba

F, a través de prueba ANOVA

#### ANOVA

##### Supuestos

##### Normalidad del error

```
Shapiro-Wilk normality test

data:  ri
W = 0.90871, p-value = 0.1294
```

##### Homocedasticidad

```
Non-constant Variance Score Test
Variance formula: ~ fitted.values
Chisquare = 0.5435327, Df = 1, p = 0.46097
```

#### ANOVA

```
Analysis of Variance Table

Response: cap_antioxid
          Df Sum Sq Mean Sq  F value    Pr(>F)
PASTEURIZACION  2 166277    83138 18795402 < 2.2e-16 ***
Residuals      12      0         0
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

#### Conclusión

Con F de 18795402 (p-valor =  $2.2 \times 10^{-16}$ ) se rechaza la hipótesis nula. Es decir al menos un  $\mu_i$  es distinto, por lo que es necesario hacer un test de Tukey.

## Test de Tukey

Study: Capacidad Antioxidante en umol TEL-1 C  
Determinada con o sin preservante y en fruto

HSD Test for Capacidad antioxidante

Mean Square Error: 0.03106333

PASTEURIZACION, means

	Capacidad antioxidante	std r	Min	Max
c_p	6.946	0.23922792	5 6.71	7.28
FRUTO	6.334	0.16395121	5 6.08	6.50
s_p	8.144	0.09528903	5 8.02	8.24

Alpha: 0.05 ; DF Error: 12

Critical Value of Studentized Range: 3.772929

Minimum Significant Difference: 0.297384

Treatments with the same letter are not significantly different.

	Capacidad antioxidante	groups
s_p	8.144	a
c_p	6.946	b
FRUTO	6.334	c

Nota: s\_p: zumo sin pasteurización; c\_p: zumo con pasteurización

## Vitamina C

### Hipótesis

$$H_0: \mu_{Fruto} = \mu_{Ext.s.p} = \mu_{Ext.c.p}$$

$H_1$ : Al menos un  $\mu_i$  es distinto

### Estadístico de prueba

F, a través de prueba ANOVA

### ANOVA

#### Supuestos

Normalidad del error

```
Shapiro-Wilk normality test

data: ri
W = 0.88239, p-value = 0.05151
```

### Homocedasticidad

```
Non-constant Variance Score Test
Variance formula: ~ fitted.values
Chisquare = 2.325793, Df = 1, p = 0.12725
```

### ANOVA

```
Analysis of Variance Table

Response: vit_c
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
PASTEURIZACION 2  1.69874  0.84937  48.822 1.719e-06 ***
Residuals      12  0.20877  0.01740
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

### Conclusión

Con F de 48.82 (p-valor =  $1.71 \times 10^{-6}$ ) se rechaza la hipótesis nula. Es decir, al menos un  $\mu_i$  es distinto, por lo que es necesario hacer un test de Tukey.

## Test de Tukey

Study: % de vitamina C  
Determinada con o sin pasteurización y en fruto

HSD Test for vit\_c

Mean Square Error: 0.01739727

PASTEURIZACION, means

	vit_c	std r	Min	Max
c_p	0.5320	0.1437341	5 0.380	0.767
FRUTO	1.3490	0.0000000	5 1.349	1.349
s_p	0.8456	0.1775734	5 0.546	1.022

Alpha: 0.05; DF Error: 12

Critical Value of Studentized Range: 3.772929

Minimum Significant Difference: 0.2225534

Treatments with the same letter are not significantly different.

	vit_c	groups
FRUTO	1.3490	a
s_p	0.8456	b
c_p	0.5320	c

Nota: s\_p: zumo sin pasteurización; c\_p: zumo con pasteurización

## Polifenoles

### Hipótesis

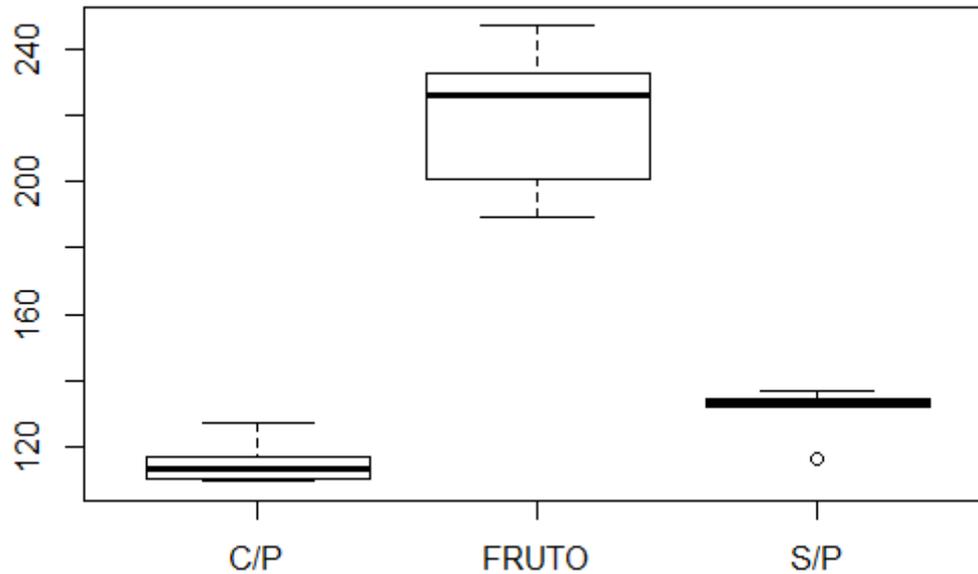
$$H_0: \mu_{Fruto} = \mu_{Ext.s.p} = \mu_{Ext.c.p}$$

$H_1$ : Al menos un  $\mu_i$  es distinto

### Estadístico de prueba

F, a través de prueba ANOVA

### Gráfica



### ANOVA

#### Supuestos

Normalidad del error

Se cumple el supuesto de normalidad del error.

Shapiro-Wilk normality test

```
data: ri  
W = 0.97081, p-value = 0.8698
```

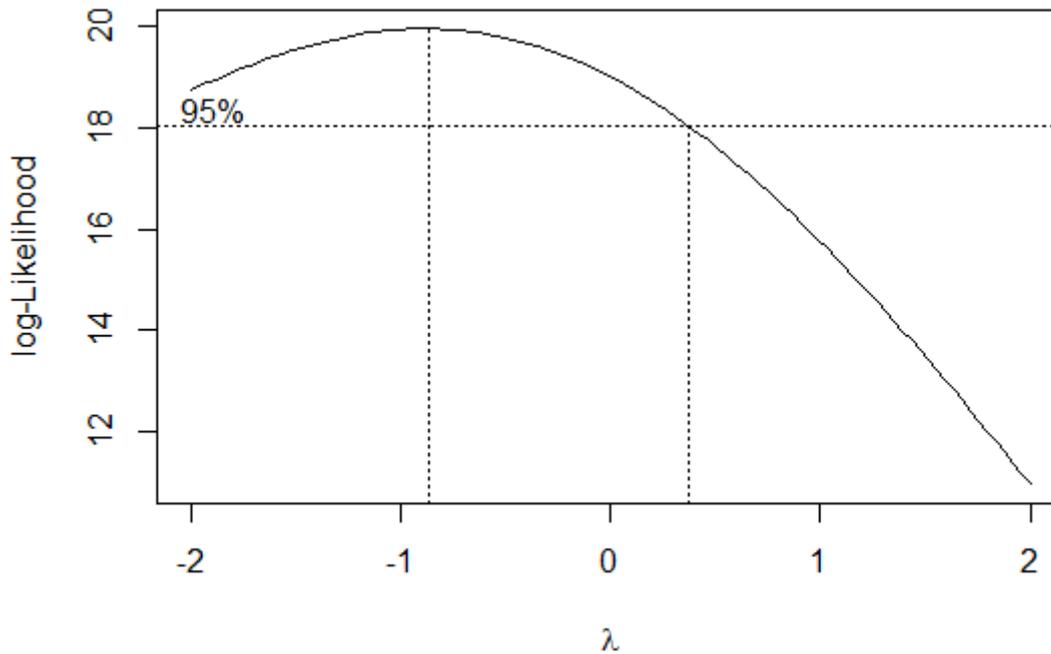
#### Homocedasticidad

No se cumple el supuesto de homocedasticidad. Por lo tanto, se buscará hacer una transformación para cumplir con dicho supuesto.

```
Non-constant Variance Score Test  
Variance formula: ~ fitted.values  
Chisquare = 8.053483, Df = 1, p = 0.0045416
```

### Box y Cox

Según se observa, se sugiere que la variable respuesta se eleve a la -1.



Los supuestos quedan de la siguiente manera:

#### Normalidad del error

```
Shapiro-Wilk normality test
data: ri
W = 0.96469, p-value = 0.7732
```

#### Homocedasticidad

```
Non-constant Variance Score Test
Variance formula: ~ fitted.values
Chisquare = 0.003179302, Df = 1, p = 0.95503
```

#### ANOVA

En este caso la variable respuesta es el logaritmo del porcentaje de polifenoles.

```
Analysis of Variance Table
Response: (polifenoles^-1)
          Df    Sum Sq   Mean Sq F value    Pr(>F)
PASTEURIZACION  2 4.5323e-05  2.2661e-05  85.314 8.048e-08 ***
Residuals      12 3.1870e-06  2.6560e-07
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

### Conclusión

Con F de 85.314 (p-valor =  $8.04 \times 10^{-8}$ ) se rechaza la hipótesis nula. Es decir, al menos un  $\mu_i$  es distinto, por lo que es necesario hacer un test de Tukey.

### Test de Tukey

De la prueba de Tukey, se observa que los valores de polifenoles en fruto son significativamente superiores al del extracto con y sin preservante. Así mismo, se debe agregar que el extracto con o sin preservantes no presentaron diferencias significativas para un nivel de confianza de 95%.

```
Study: % de polifenoles C
Determinada con o sin preservante y en fruto

HSD Test for polifenoles

Mean Square Error: 225.1617

PASTEURIZACION, means

      polifenoles      std r      Min      Max
C/P      115.418  7.264535 5 109.34 127.22
FRUTO    219.178 23.603795 5 189.32 247.03
S/P      130.464  8.097681 5 116.29 136.54

Alpha: 0.05 ; DF Error: 12
Critical Value of Studentized Range: 3.772929

Minimum Significant Difference: 25.31867

Treatments with the same letter are not significantly different.

      polifenoles groups
FRUTO    219.178      a
S/P      130.464      b
C/P      115.418      b
```

## Genipina

Se tienen las siguientes hipótesis:

$$H_0: \mu_{Fruto} = \mu_{M1} = \mu_{M2}$$

$$H_1: \text{Al menos un } \mu_i \text{ es distinto}$$

Se empleó un nivel  $\alpha = 0.05$ .

### ANOVA

Se realizó el ANOVA previo cumplimiento de los supuestos de normalidad y homocedasticidad.

#### Analysis of Variance Table

Response: Genipin

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Trat	2	6.2229	3.11145	4991.6	< 2.2e-16 ***
Residuals	12	0.0075	0.00062		

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

### Tukey

En vista que la prueba ANOVA mostró que no todas las medias son iguales, se realizó la prueba de Tukey para realizar comparaciones múltiples. Dicha prueba se realizó utilizando el paquete Agricolae (Mendiburu, 2020). El contenido de Genipin en M1 (extracto sin pasteurizar) es significativamente mayor en el Fruto y en M2 (extracto pasteurizado) con un nivel de confianza de 95%. Así mismo, que el contenido de Genipin del fruto es significativamente mayor al de M2 (extracto pasteurizado).

#### Genipin groups

M1 (Ext. s/past).	1.91	a
FRUTO	0.72	b
M2 (Ext.past.)	0.41	c

## Ácido Geniposidico

Se tienen las siguientes hipótesis:

$$H_0: \mu_{Fruto} = \mu_{M1} = \mu_{M2}$$

$H_1$ : Al menos un  $\mu_i$  es distinto

Se empleó un nivel  $\alpha = 0.05$ .

### ANOVA

Se realizó el ANOVA previo cumplimiento de los supuestos de normalidad y homocedasticidad.

#### Analysis of Variance Table

Response: Gen.acid

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Trat	2	0.29089	0.145447	5.173	0.02398 *
Residuals	12	0.33740	0.028117		

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

### Tukey

En vista que la prueba ANOVA mostró que no todas las medias son iguales, se realizó la prueba de Tukey para realizar comparaciones múltiples. Dicha prueba se realizó utilizando el paquete Agricolae (Mendiburu, 2020). El contenido de Gen. Acid en M1 (extracto sin pasteurizar) es significativamente mayor en el Fruto y en M2 (extracto pasteurizado) con un nivel de confianza de 95%. Así mismo, el contenido de Genipin del fruto no difiere al de M2 (extracto pasteurizado).

#### Gen.acid groups

M1(Ext. s/past).	1.95	a
M2 ((Ext.past.)	1.66	b
FRUTO	1.64	b

## Anexo 5

### Análisis de minerales en el zumo de Huito



#### INFORME DE ENSAYO N° 1-04338/18

Pág. 1/2

Activar Windows  
Ve a Configuración para activar

Solicitante : UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA  
 Domicilio legal : Av. La Molina S/n - La Molina - Lima  
 Producto declarado : ZUMO DE FRUTA  
 Cantidad de Muestras para el Ensayo : 1 muestra x 1,2 L  
 Muestra proporcionada por el solicitante  
 Identificación de la muestra : GENIPA AMERICANA  
 Forma de Presentación : En botella de vidrio, cerrada y conservado a temperatura ambiente  
 Fecha de recepción : 2018 - 05 - 17  
 Fecha de inicio del ensayo : 2018 - 05 - 17  
 Fecha de término del ensayo : 2018 - 05 - 21  
 Ensayo realizado en : Laboratorio de Físico Química - Alimentos  
 Identificado con : H/S 18005295 (EXAI-07468-2018)  
 Validez del documento : Este documento es válido solo para la muestra descrita

Ensayo	LC	Unidad	Resultados	
Metales por ICP	Aluminio	0,25	mg/kg	<0,25
	Antimonio	0,25	mg/kg	<0,25
	Arsénico	0,06	mg/kg	< 0,06
	Bario	0,05	mg/kg	0,18
	Berilio	0,05	mg/kg	<0,05
	Boro	0,25	mg/kg	6,66
	Cadmio	0,05	mg/kg	<0,05
	Calcio	2,5	mg/kg	96,37
	Cerio	0,02	mg/kg	<0,02
	Cobalto	0,05	mg/kg	<0,05
	Cobre	0,05	mg/kg	<0,05
	Cromo	0,05	mg/kg	<0,05
	Estaño	0,1	mg/kg	<0,1
	Estroncio	0,05	mg/kg	0,65
	Fosforo	0,5	mg/kg	216,14
	Hierro	0,2	mg/kg	4,18
	Litio	0,15	mg/kg	<0,15
	Magnesio	0,35	mg/kg	260,61
Manganeso	0,05	mg/kg	0,88	
Mercurio	0,002	mg/kg	<0,002	

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

CALLAO  
Oficina Principal  
Av. Santa Rosa 601, La Perla - Callao  
T. (511) 319 9000

AREQUIPA  
Calle Teniente Rodríguez N° 1415  
Miraflores - Arequipa  
T. (054) 265572

CHIMBOTE  
Urb. José Carlos Mariátegui s/n  
Centro Cívico, Nuevo Chimbote  
T. (043) 311 048

PIURA  
Urb. Angamos A - 2 - Piura  
T. (073) 322 908 / 9975 63161

info@cerper.com - www.cerper.com

**INFORME DE ENSAYO N° 1-04338/18**

Pág. 2/2

Activar Windows  
Ve a Configuración para ac

Ensayo	LC	Unidad	Resultados
Molibdeno	0,05	mg/kg	<0,05
Níquel	0,05	mg/kg	<0,05
Oxido de Silicio	0,540	mg/kg	9,91
Plata	0,05	mg/kg	<0,05
Plomo	0,1	mg/kg	<0,1
Potasio	4,5	mg/kg	3 674
Selenio	0,25	mg/kg	<0,25
Sodio	1,5	mg/kg	25,57
Talio	0,25	mg/kg	<0,25
Titanio	0,15	mg/kg	<0,15
Vanadio	0,05	mg/kg	<0,05
Zinc	0,05	mg/kg	0,68

LC: Límite de cuantificación

**MÉTODO**

Metales por ICP: EPA Method 200.7. 1994. Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometric Method for trace Element Analysis of Water and Wastes.

**OBSERVACIONES**

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de CERPER S.A.  
Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de la calidad de la entidad que lo produce.

Callao, 26 de mayo de 2018  
DA

\*EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE\*

**CALLAO**  
Oficina Principal  
Av. Santa Rosa 601, La Perla - Callao  
T. (511) 319 9000  
info@cerper.com - www.cerper.com

**AREQUIPA**  
Calle Teniente Rodríguez N° 1415  
Miraflores - Arequipa  
T. (054) 265572

**CHIMBOTE**  
Urb. José Carlos Mariátegui s/n  
Centro Cívico, Nuevo Chimbote  
T. (043) 311 048

**PIURA**  
Urb. Angamos A - 2 - Piura  
T. (073) 322 908 / 9975 63161