

**Universidad Pública de Navarra**

*Nafarroako Unibertsitate Publikoa*

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR  
DE INGENIEROS AGRÓNOMOS**

*NEKAZARITZAKO INGENIARIEN  
GOI MAILAKO ESKOLA TEKNIKOA*

CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DEL OVO (*Spondia purpurea* L)  
DE AMBUQUÍ

presentado por

Liliana Chamorro Hernández (*e*)k

*aurkeztua*

MASTER EN TECNOLOGIA Y CALIDAD EN LAS INDUSTRIAS  
AGROALIMENTARIAS

Junio, 2014



# INDICE

INDICE.....	iii
INDICE DE FIGURAS.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
INDICE DE TABLAS .....	vii
RESUMEN .....	ix
1. INTRODUCCIÓN .....	2
2. ANTECEDENTES.....	5
2.1 EL OVO .....	5
2.1.1 Clasificación botánica.....	5
2.1.2 Origen de Spondias purpurea L.....	5
2.1.3. Producción de ovo en Ecuador .....	6
2.2 CARACTERIZACIÓN DE ALIMENTOS.....	7
2.2.1 Importancia de la caracterización de los alimentos .....	7
2.2.2 El análisis de la composición de los alimentos .....	8
2.2.3 Características físico-químicas de las frutas .....	8
2.2.3.1 Peso y volumen .....	8
2.2.3.2 Rigidez.....	9
2.2.3.3 pH y acidez valorable.....	9
2.2.3.4 Hidratos de carbono .....	9
2.2.3.5 Minerales .....	10
2.2.3.6 Color.....	10
2.2.3.6.1 Pigmentos presentes en las frutas .....	10
2.2.3.6.2 Medición del color en alimentos .....	13

2.2.3.6.3	Sistemas de ordenación del color.....	15
2.2.3.7	Actividad antioxidante.....	17
2.2.3.7.1	Antioxidantes.....	18
2.2.3.7.2	Estrés oxidativo.....	19
2.2.3.7.3	Antioxidantes en frutas.....	19
2.2.3.7.5	Métodos de determinación de actividad antioxidante.....	20
2.2.4	Caracterización Físico-química del ovo.....	24
3.-	OBJETIVOS.....	27
4.-	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	28
	Figura 9. Diseño experimental. SST: sólidos solubles totales, AV: acidez valorable, H: humedad, AA: actividad antioxidante.....	28
4.-	MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
4.1	MUESTRAS DE OVOS.....	29
4.1.1	Pre-tratamiento de las muestras para medir el peso, diámetros, pH, SST y AV.....	29
4.1.2	Pre-tratamiento para la obtención de extractos para AA.....	30
4.1.2.1	Secado de las muestras por liofilización.....	30
4.1.2.2	Extracción sólido-líquido.....	31
4.2	ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS.....	31
4.2.1	Color.....	31
4.2.2	Peso.....	32
4.2.3	Dimensiones.....	32
4.2.4	pH.....	32
4.2.5	Sólidos solubles totales (SST).....	32
4.2.7	Humedad (H).....	34
4.2.8	Actividad antioxidante (AA) por DPPH.....	34

4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	35
5.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	36
Figura 10. Clasificación visual, seleccionada, de acuerdo al color de S purpúrea L, clase 1 (verde), clase 2 (+verde – naranja), clase 3 (+naranja – verde), clase 4 (naranja rojizo). .....	36
Figura 11. Reflectancia de las cuatro clases de ovo clase 1(verde), clase 2 (+verde – naranja), clase 3 (-verde + naranja), clase 4 (naranja rojizo).....	37
5.2 CORRELACIONES ENTRE LAS COMPONENTES DE COLOR Y LOS DISTINTOS PARÁMETROS .....	49
5.3 ANALISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES.....	51
5.4 ANALISIS DISCRIMINANTE .....	53
6. CONCLUSIONES.....	57
7. BIBLIOGRAFÍA.....	58

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de localización de Ambuquí en Ecuador. ....	2
Figura 2. Ovo <i>S. purpurea</i> L. (Fuente: Berti, 2013) .....	3
Figura 3. Espectro de absorción de la clorofila a y b .....	11
Figura 4. Estructuras químicas de $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -caroteno, $\beta$ -criptoxantina, licopeno, luteína y zeaxantina .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 5. Espectro de absorción de $\beta$ -caroteno y luteína .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 6. Longitud de onda (nm) .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 7. Sistema Munsell .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 8. Espacio de color CIELAB .....	17
Figura 9. Diseño experimental. ....	28
Figura 10. Clasificación visual .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 11. Reflectancia de las cuatro clases de ovo ..	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 12. Ubicación de los valores medios de $a^*$ y $b^*$ en el plano.....	<b>¡Error!</b> <b>Marcador no definido.</b>
Figura 13. Recta patrón de $\mu\text{M}$ Trolox con respecto al % de inhibición de DPPH .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 14. Gráfico de pesos del componente .....	52
Figura 15. Diagrama de dispersión de los parámetros medidos.....	53
Figura 16. Gráfica de Funciones Discriminantes .....	54

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Peso en g de las muestras liofilizadas antes y después de tamizar.....	30
Tabla 2. Valores medios de la diferencia de reflectancia.....	37
Tabla 3. Valores medios de L* a* b* de las cuatro clases de ovo .....	39
Tabla 4. Valores medios y desviación estándar de C* y h* de las cuatro clase.....	40
Tabla 5. Valores de la comparación del color del ovo con el Sistema Munsell.....	40
Tabla 6. Peso en g de ovo de las cuatro clases de ovos.....	42
Tabla 7. Medias de los diámetros en mm de las cuatro clases de ovos.....	43
Tabla 8. Valores medios de pH de las cuatro clases de ovo .....	44
Tabla 9. Valores medios de SST en °Brix de las cuatro clases de ovo .....	45
Tabla 10. Valores de AV en g de ácido cítrico por 100 ml de producto .....	46
Tabla 11. Valores de la humedad en porcentaje de las cuatro clases de ovos .....	47
Tabla 12. Valores medios del porcentaje de inhibición de DPPH y AA en μMTrolox/g de extracto seco de las cuatro clases de ovo. (n= 33) .....	49
Tabla 13. Tabla de correlaciones lineales.....	50
Tabla 14. Análisis de componentes principales.....	51
Tabla 15. Tabla de clasificación .....	54
Tabla 16. Coeficientes de la Función de clasificación para Clase .....	54
Tabla 17. Validación del método .....	56





## RESUMEN

En Ecuador se producen tres variedades de ovo, *Spondias mombin* L, *Spondias cytherea* L. en la Costa y *Spondias purpurea* L. que se produce en la localidad de Ambuquí y se consume tanto como si está o no maduro.

Se evaluaron las características físico-químicas del ovo de Ambuquí. Las componentes de color L\*, a\* y b\* permitieron ubicar a los frutos en el plano del diagrama de color y clasificarlos en cuatro clases: clase 1 (verde), clase 2 (+verde – naranja), clase 3 (-verde + naranja) clase 4 (naranja rojizo), siendo la componente a\* la que presenta un mayor coeficiente de variación (CV: 135,05 %) atribuyendo a que los frutos variaron del color verde (-3,29), amarillo (3,60), naranja (11,38) hasta rojo (27,48), como sucede en el proceso de maduración.

El peso varió desde 7,18 g a 19,98 g, existiendo una diferencia significativa ( $P < 0,05$ ) entre las cuatro clases. El diámetro longitudinal varió de 30,86 mm a 33,99 mm aunque no hubo diferencias significativas entre las clases 1, 2 y 3. El diámetro axial varió de 19,31 mm a 23,13 mm y no existieron diferencias significativas entre las clases 3 y 4.

El pH y los Sólidos solubles totales (SST) aumentan, conforme madura el fruto (2,47 a 3,07 para el pH y 12,01 hasta 16,63 °Brix para los SST), mientras que la acidez valorable disminuye desde 1,29 a 0,64 g de ácido cítrico por 100 ml de producto, existiendo una diferencia significativa ( $P < 0,05$ ) entre las cuatro clases de ovo tanto para el pH, SST como para la acidez valorable.

Con respecto a la humedad (H) no se evidenciaron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre las cuatro clases de ovo, variando su valor desde 77,01 a 78,65 %. La actividad antioxidante se evaluó por el método de DPPH y se observó que, entre las clases 1 y 2 no hubo diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) con valores de 199,92 y 210,91  $\mu\text{Mtrolox/gMS}$ , la clase 3 presentó el valor más alto (223,31  $\mu\text{Mtrolox/gMS}$ ) y cuando el fruto alcanza la madurez de consumo, la AA presenta el valor más bajo de AA 164,46  $\mu\text{Mtrolox/gMS}$ ).



## 1. INTRODUCCIÓN

En Ecuador, al norte de la provincia de Imbabura, se encuentra la localidad de Ambuquí (Figura 1). Esta provincia tiene un clima cálido-seco con un promedio de temperatura de 24 °C y 80 % de HR. Cerca de siete mil habitantes pertenecen a esta localidad conocida por la producción de ovo (*Spondia purpurea* L.), que pertenece a la familia Anacardiaceae.

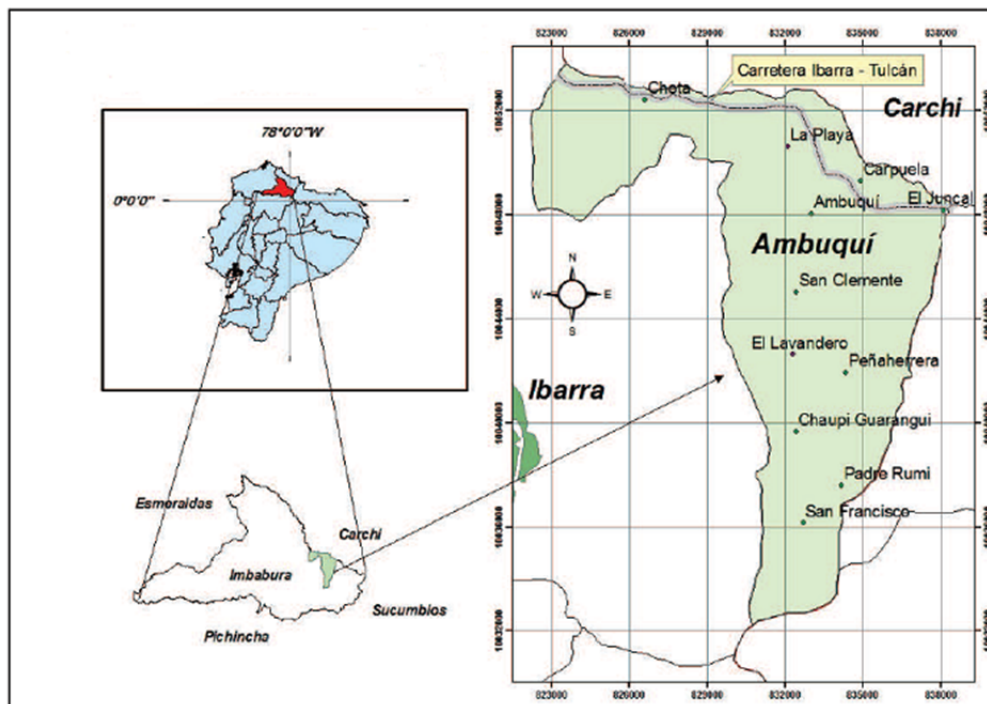


Figura 1. Mapa de localización de Ambuquí en Ecuador. (Fuente: Guzman, 2008)

El ovo es una drupa ovoide y pequeña; es un fruto climatérico (que sigue madurando una vez recolectado) de color verde en su estado de madurez fisiológica alcanzando un color anaranjado rojizo al final de la maduración, posee poca pulpa, aunque, la que tiene es jugosa, su sabor es agrídulce muy agradable y se caracteriza por ser muy aromático (Figura 2). En Ecuador se consume el ovo tanto verde como maduro, por lo general el ovo verde se consume con sal.



Figura 2. Ovo *S. purpurea* L. (Fuente: Berti, 2013)

Según Chamorro & Herrera (2012) la producción de ovo varía de 20 000 a 30 000 kg por hectárea, también, mencionan que *S. purpurea* L. es un fruto muy delicado por lo que es difícil comercializarlo fuera de la zona de producción y por tradición la mayor parte de la población de la zona se dedica a su cultivo. Tres especies de *Spondias* se producen en Ecuador: *S. mombin* L, *S. cytherea* L. en la costa del país y *S. purpurea* L. que es la variedad que se produce en la localidad de Ambuquí. (Koziol & Macía, 1998).

Los frutos de *S. purpurea* L. proporcionan una alta densidad calórica, este valor se debe principalmente a la elevada concentración de hidratos de carbono presentes en el ovo, también, representa una fuente regular de potasio y una excelente fuente de vitamina C. (Koziol & Macía, 1998).

Las especies *S. purpurea* L. y *S. mombin* L. también se cultivan en México donde se conocen como ciruela mexicana. El fruto maduro de la ciruela mexicana contiene vitamina C y moderada proporción de minerales como potasio y calcio, así como compuestos antioxidantes como fenoles y carotenoides (Tejacal *et al.*, 2012).

En la actualidad, en la literatura científica de alto nivel, existen pocas referencias sobre las características y potencialidades del ovo (*S. purpurea* L.) de Ambuquí. Existiendo, aunque poca, información de la otra variedad de ovo (*S. mombin* L.) que se produce en la Costa de Ecuador.

Por ello, el objetivo de este trabajo es realizar la caracterización del ovo de Ambuquí. Dicha caracterización se centrará en la determinación de las dimensiones, peso, color, indicadores de madurez de la pulpa (pH, acidez total y contenido de sólidos solubles totales), actividad antioxidante y se establecerá la relación entre el color del fruto y los otros parámetros determinados.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 EL OVO

#### 2.1.1 Clasificación botánica

Es un fruto de un árbol perenne que pertenece a la familia Anacardiaceae, género *Spondias* y especie purpúrea (Acevedo Pons & García, 2012). El género *Spondias* comprende 17 especies, siete de las cuales son neo-tropicales y diez del trópico asiático (Ruenes, Casas, Jiménez, & Caballero, 2010).

El ovo (*Spondias purpurea* L.) es una fruta conocida a lo largo del trópico americano es así que ha adquirido distintos nombres comunes como: ciruela, ciruela de huesito, cirguelo, jobo, jobito, ovo, jocote, siriguela. hobo. (Acevedo Pons & García, 2012)

#### 2.1.2 Origen de *Spondias purpurea* L.

*Spondias purpurea* L. es nativa de México y América Central, donde todavía se encuentran algunas poblaciones silvestres (Macia & Barfod, 2000) y forman parte de los bosques tropicales caducifolios (Ruenes *et al.*, 2010), se ha naturalizado en las Antillas incluyendo las Bahamas, algunas variedades también se cultivan en La Florida (Macia & Barfod, 2000).

En Ecuador, el ovo se introdujo en los tiempos pre-coloniales y se propagó por clonación. La distribución actual de ovo en Ecuador se limita a la llanura costera y los valles secos y calientes de la montaña occidental de los Andes (Macia & Barfod, 2000).

*S. purpurea* L. es un árbol que alcanza los 15 m de altura con hojas compuestas imparipinnadas con una vaina intermarginal. Las flores son pequeñas de colores variados, arregladas en racimos cortos, con frecuencia se le confunde con *S. mombin* L. especie que posee hojas de 25 – 30 cm de largo y flores arregladas

en pequeños racimos axilares (menor a 8 cm de largo). Los estambres son desiguales, más cortos que los pétalos. (Ruenes *et al.*, 2010).

### 2.1.3. Producción de ovo en Ecuador

En Ecuador se producen tres especies de *Spondias*: *mombin*, *purpúrea* y *cytherea*. *S. mombin* L. distribuida a ambos lados de los Andes, es altamente polimórfico, considerado, de calidad inferior con respecto a las otras dos especies ecuatorianas y se lo conoce como ciruela. *S. cytherea* L. que se encuentra en pocos lugares de la costa ecuatoriana y es el más grande de este género. La tercera especie es *S. purpurea* L conocida como ovo en el norte de Ecuador y principalmente se produce en Ambuquí (Macia & Barfod, 2000).

En Ecuador la producción anual de fruta fresca de ovo que se obtiene en Ambuquí varía desde 20 000 hasta 30 000 kg por hectárea según datos del Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador, es decir, de 15 a 22 kg de fruto por árbol y año. Esta cifra es baja frente a otros reportes donde se manifiesta que existe una producción de 30 a 80 kg por planta (Agromar El Comercio, 2010; Chamorro & Herrera, 2012).

El ovo (*S. purpurea* L. y *S. mombin* L.) en Ecuador es apreciado ampliamente por ser una fruta dulce, sabrosa y nutritiva (Koziol & Macía, 1998). Por lo general se consume localmente ya que es un fruto muy delicado y difícilmente llega a mercados de otras ciudades. En la actualidad en la zona de Ambuquí, 50 hectáreas se destinan a la producción de ovo, de las cuales, solamente el 1 % se industrializa (Agromar El Comercio, 2010).

El ovo, (*S. purpurea* L. y *S. mombin* ) se consume como fruta fresca madura y verde. Es, también, cocida y mezclada con azúcar para ser servida como postre. Hervida y deshidratada se puede conservar varios meses. Contiene bastante vitamina B y C, calcio, hierro y fósforo. Por otra parte los brotes tiernos y las hojas son comestibles y se consumen crudos o cocidos como vegetales en algunas zonas

de América Central. El árbol, considerado como forrajero, es utilizado para cercas y la madera puede servir para la fabricación de cerillos, pulpa y papel. <sup>1</sup>

La industrialización del ovo de Ambuquí la realizan microempresas locales y los productos derivados del ovo son: mermelada, conserva en almíbar, vinos y helados.

En Ambuquí se rinde tributo al pequeño fruto (ovo) siendo una de las principales celebraciones que se realiza en la localidad. La fiesta lleva el nombre de “La Fiesta del ovo” el festejo empieza en el mes de marzo donde todos los habitantes participan para celebrar, así, el inicio de la cosecha del ovo.

## **2.2 CARACTERIZACIÓN DE ALIMENTOS**

La caracterización de los alimentos proviene de los resultados de diferentes ensayos a los que se les puede someter utilizando diferentes métodos de evaluación los cuales pueden agruparse en función de los objetivos que se persigan.

### **2.2.1 Importancia de la caracterización de los alimentos**

La importancia de realizar una caracterización de los alimentos radica en que todos los seres humanos somos consumidores de alimentos y nuestro organismo debe consumir diariamente cierta cantidad de nutrientes en una dieta equilibrada para mantener una vida saludable.

La caracterización de los alimentos permite conocer la composición química y las propiedades físicas de los alimentos que se utilizan para determinar el valor nutricional, las características funcionales y la aceptabilidad o no de un producto. (Nielsen, 2008)

---

<sup>1</sup> El ovo la delicia de Ambuquí. (2013).

<http://ovoladeliciadeambuqui.blogspot.com.es/p/quienes-somos.html>



Así, la evaluación involucra tres tipos de análisis: análisis físico-químico, microbiológico y sensorial.

### **2.2.2 El análisis de la composición de los alimentos**

Con respecto a la caracterización de los alimentos, los análisis físico-químicos que se realizan habitualmente son:

- Determinación de vitaminas, proteínas, hidratos de carbono y grasas.
- Determinación del pH, de la acidez valorable y del contenido de sólidos solubles totales.
- Determinación de la humedad.
- Determinación de cantidad de ceniza.
- Características reológicas.
- Propiedades térmicas.
- Color.

Todas estas propiedades son importantes ya que tienen gran influencia en la calidad nutricional y sensorial de los alimentos. Así mismo son importantes para establecer las condiciones de conservación y los tratamientos necesarios para su transformación.

### **2.2.3 Características físico-químicas de las frutas**

#### **2.2.3.1 Peso y volumen**

El peso y el volumen son cambios físicos que sufren las frutas durante la maduración. A lo largo del periodo de maduración las frutas alcanzan su tamaño y forma definitiva sufriendo aumentos de peso y volumen. Este fenómeno se debe principalmente al aporte continuo de agua hacia el fruto y a una acumulación de azúcares y otras sustancias de reserva. Una vez alcanzada la madurez, se observa una estabilización e incluso una disminución del valor de estos parámetros debido, esencialmente, a un aumento de la transpiración del fruto (Andrades & Gonzalez, 1995).

Las frutas están formadas en un 80 – 90 % por agua (Aranceta & Perez, 2006), el resto se conoce como sólidos totales (Nielsen, 2008) y el contenido en proteínas, lípidos (excepto el aguacate, con el 23 %) e hidratos de carbono (excepto el plátano, con 20 %) es bajo.

### **2.2.3.2 Rigidez**

La rigidez de la piel y de la pulpa disminuye al aumentar el estado de maduración. A lo largo de la maduración las frutas van perdiendo firmeza por hidrólisis de las sustancias pécticas de la pared celular.

### **2.2.3.3 pH y acidez valorable**

La acidez valorable de las frutas se utiliza, junto con el contenido en azúcares, como un indicador de su grado de maduración (Nielsen, 2008). Las frutas destacan por su riqueza en ácidos orgánicos, entre los que se encuentran fundamentalmente, los hidroxiacidos no fenólicos (cítrico, málico, succínico, tartárico y tánico) y los ácidos fenólicos. Estos ácidos no fenólicos son responsables de la acidez de la fruta verde y disminuyen durante la maduración debido a su transformación parcial en azúcares simples (Aranceta & Perez, 2006).

Numerosos trabajos confirman el descenso de la acidez valorable a lo largo de la maduración de las frutas. Y otros estudios señalan que la disminución de la acidez y aumento del pH se debe a tres causas:

- Salificación de los ácidos del fruto, por la formación de las sales potásicas.
- Combustión interna, es decir, por combustión respiratoria.
- Dilución por engrosamiento del fruto. (Andrades & Gonzalez, 1995)

### **2.2.3.4 Hidratos de carbono**

Los hidratos de carbono son los componentes más abundantes, en especial azúcares, almidones, celulosa, hemicelulosa y sustancias pécticas. La proporción de azúcar y demás hidratos de carbono es diferente entre una fruta y otra e incluso dentro de la misma especie. Además varía con el grado de maduración; el

almidón desaparece a medida que la fruta madura, a la vez se acumula más cantidad de azúcar (Nielsen, 2008).

### **2.2.3.5 Minerales**

Entre las sustancias minerales de las frutas hay que destacar el fósforo y el potasio. El potasio suele llegar a representar el 50 % de las cenizas. Entre los minerales que se hallan en menor proporción se encuentran el calcio, el magnesio y el manganeso.

### **2.2.3.6 Color**

El color es una propiedad física importante, en el mundo de los alimentos porque puede producir la aceptación o rechazo de éstos por parte de los consumidores (Sahin & Gulum, 2006).

Sabemos por ejemplo, que con luz diurna las naranjas son verdes al inicio de su fase de crecimiento, y cómo su color va cambiando según el grado de madurez. Por el color percibido somos capaces de predecir su sabor, agradable o no, y de decidir aceptarlas o rechazarlas (Artigas, Capilla, & Pujol, 2002).

#### **2.2.3.6.1 Pigmentos presentes en las frutas**

La amplia gama de colores de las frutas se debe a los pigmentos vegetales como: clorofilas, carotenoides y flavonoides (antocianinas, antoxantinas, compuestos fenólicos) (Aranceta & Perez, 2006).

##### **- La clorofila**

La clorofila es responsable del color verde, pero, pocas frutas maduras contienen este pigmento en cantidades apreciables, excepto el aguacate, la ciruela verde y las grosellas silvestres (Aranceta & Perez, 2006). El cambio de color de las frutas durante la maduración es muy típico y suele deberse a la degradación de la clorofila (pigmento de color verde) haciendo visibles, otros, pigmentos que se encontraban encubiertos (Coultate, 2007). Debido a la pérdida de la clorofila y a la aparición de carotenoides y flavonoides, durante el proceso de maduración se produce un cambio de color que da paso a tonalidades rojizas y amarillentas. En

otras frutas, como en manzanas o peras la clorofila puede mantenerse enmascarando a otros pigmentos (Aranceta & Perez, 2006)

La clorofila absorbe todas las longitudes de onda visibles del espectro electromagnético reflejando únicamente las longitudes correspondientes al color verde como lo hace la clorofila **a**, o absorbiendo una parte mínima de las longitudes de onda comprendidas, entre 500 y 570 nm como la clorofila **b** (Figura 3).

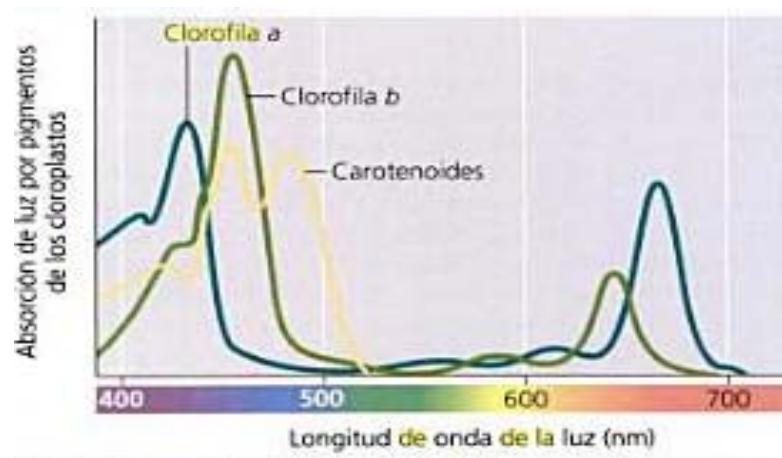


Figura 3. Espectro de absorción de la clorofila a y b (Fuente: Campbell, 2007)

## - Carotenoides

Los carotenoides son los pigmentos responsables del color amarillo y naranja de numerosas frutas y hortalizas. Se dividen en dos grupos principales: los carotenos y las xantofilas. El caroteno más simple es el licopeno, otros carotenos se forman por ciclación de los extremos de la cadena del licopeno como:  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno y  $\gamma$ -caroteno (Coultate, 2007) (Figura 4). El beta-caroteno es el compuesto que da a las zanahorias su color naranja y es convertido por el hígado en vitamina A (Youngson, 1994).

Las xantofilas pueden inicialmente considerarse como productos de la hidroxilación de los carotenos y la mayor parte de los tejidos vegetales contienen cantidades trazas de criptoxantinas, los precursores monohidroxilados de las xantofilas dihidroxiladas, como la zeaxantina y la luteína (Coultate, 2007).

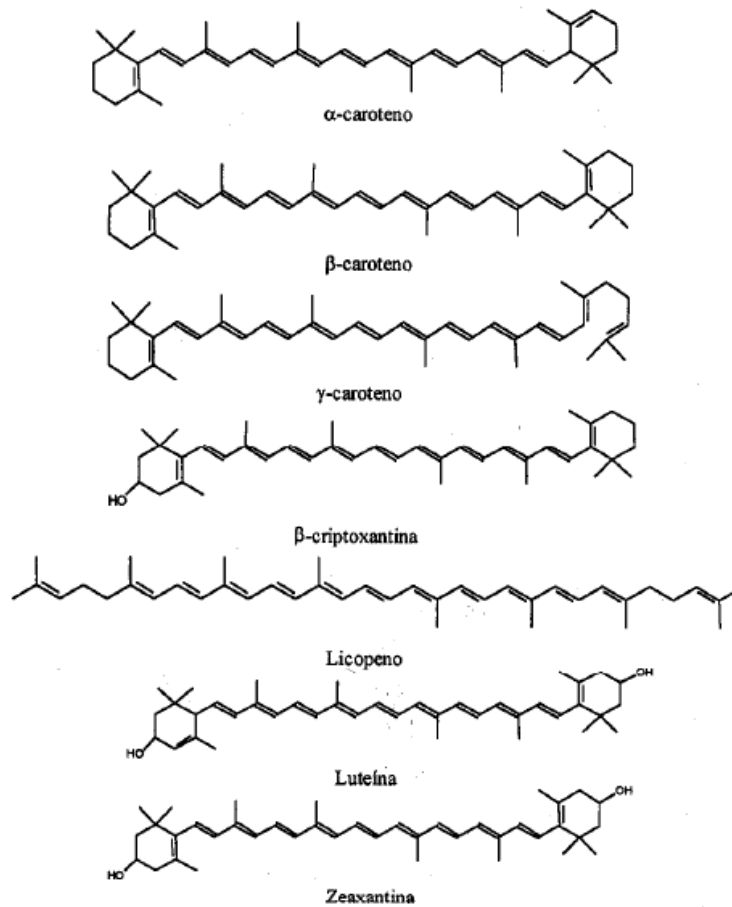


Figura 4. Estructuras químicas de  $\alpha$ -  $\beta$ - $\gamma$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina, licopeno, luteína y zeaxantina (Fuente: Coultate, 2007)

Por lo general, los carotenoides son solubles en disolventes orgánicos apolares. Sus espectros de absorción son bastante similares, viéndose notablemente influidos en su  $\lambda_{\text{máx}}$ . Los espectros de absorción de  $\beta$ -caroteno y luteína (Figura 5) muestran que las xantofilas son los pigmentos dominantes en los tejidos de color amarillo, mientras que los carotenos tienden a proporcionar una coloración naranja (Coultate, 2007).

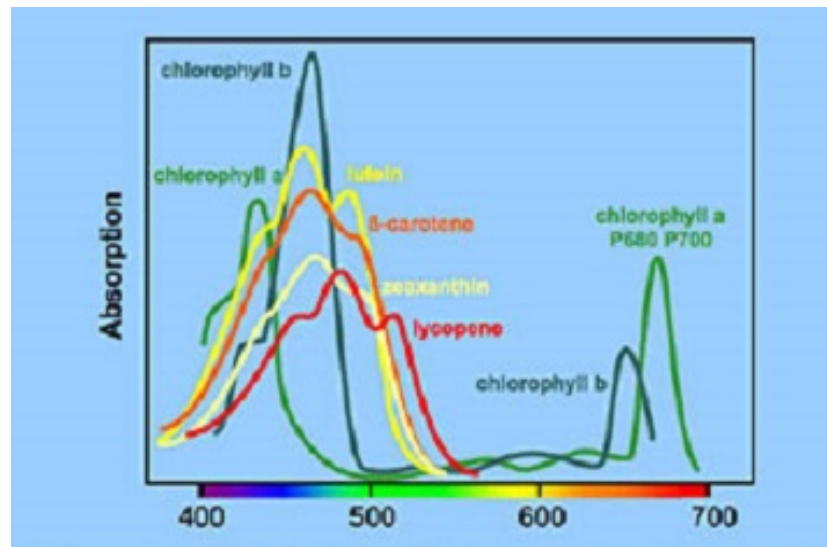


Figura 5. Espectro de absorción de  $\beta$ -caroteno y luteína (Fuente: Acuario de arrecife.)

## - Flavonoides

Los pigmentos flavonoides (flavonoles, catequinas y antocianinas) se hallan ampliamente distribuidos en las plantas y son responsables del color de las frutas blandas, tales como fresas, cerezas y uvas negras, entre otras. Las antocianinas abundan más en frutas que en verduras y hortalizas y pueden ser rojas, púrpuras o azules. Se encuentran generalmente en la piel, aunque, también puede hallarse en la parte carnosa, como en el caso de las cerezas (Aranceta & Perez, 2006).

### 2.2.3.6.2 Medición del color en alimentos

La medida del color es extremadamente importante en diversos campos de la ciencia de los alimentos. (Artigas et al., 2002). A veces, en vez de análisis químicos, la medición del color se puede utilizar si se presenta una correlación entre la presencia del componente coloreado y el producto químico en el alimento puesto que la medida del color es más simple y rápida que el análisis químico. Por ejemplo, el contenido total de carotenoides de calabaza se puede determinar a partir de las mediciones de color sin llevar a cabo análisis químicos debido a que existe una correlación entre el contenido total de carotenoides y el color de las calabazas (Sahin & Gulum, 2006).

La percepción del color de un objeto por el ojo humano tiene lugar en las células cónicas de la retina, cada uno de los cuales responde mejor a la luz de una determinada longitud de onda: 445, 535 y 570 nm (Coulgate, 2007). La luz de diferentes longitudes de onda se percibe en forma de colores diferentes. Muchas fuentes de luz emiten radiación electromagnética que es equilibrada en todas las longitudes de ondas contenidas en la región visible (Sahin & Gulum, 2006).

Físicamente, el color de un objeto se mide y representa por las curvas espectrofotométricas, que son representaciones de las fracciones de luz incidente (reflejada o transmitida) en función de la longitud de onda total del espectro visible (Figura 6).



Figura 6. Longitud de onda (nm) (Fuente: Taberner, V. 2010)

Para la presencia de color son necesarios un objeto, una fuente de luz o un iluminante y un observador.

#### - Iluminante

Las fuentes de luz o iluminantes se utilizan para ver un objeto; por otra parte el iluminante es una descripción matemática de una fuente de luz. La Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) (Comisión Internacional de la Iluminación) recomendó en 1931 tres fuentes de luz reproducibles en un laboratorio. El iluminante A define la luz de la lámpara incandescente, el iluminante B representa la luz del sol y el iluminante C representa el promedio de la luz del día del total del cielo. Basados en las mediciones de la luz del día, la CIE

recomendó en 1966 una serie de iluminantes D para representar la luz del día; siendo el D65 uno de los iluminantes patrones más utilizados en aplicaciones prácticas (Sahin & Gulum, 2006).

- **Objeto**

Con lo que respecta al objeto, las radiaciones de iluminación son modificadas por el objeto mediante procesos físicos como: la transmisión, reflexión, absorción y dispersión; dependiendo de las características del material como: forma, espesor, composición química etc.

- **Observador**

Los detectores comunes de la luz y el color son el ojo, el sistema nervioso y el cerebro. El ojo enfoca la imagen del objeto en la retina; dependiendo del ángulo de observación la sensibilidad del ojo cambia, por la que la CIE en 1931 estableció un observador a 2<sup>o</sup> y en 1961 definió el observador de 10<sup>o</sup> (Artigas et al., 2002).

### **2.2.3.6.3 Sistemas de ordenación del color**

Los sistemas de orden de color son disposiciones tridimensionales de color de acuerdo a la apariencia. Cada color tiene una notación relacionándolo con su posición en el dispositivo.

- **Sistema de color Munsell**

En este sistema de color se pueden describir miles de colores utilizando el tono (hue), valor (luminosidad) y croma (saturación). El tono es la calidad por la que un color se distingue de otro. El tono se define sobre el árbol de color Munsell en la dirección circunferencia por cinco tonos principales y cinco intermedios. Las letras utilizadas para designar los tonos principales son R (rojo), Y (amarillo), G (verde), B (azul), P (púrpura) y sus intermedios YR (amarillo-rojo), GY (verde-amarillo), BG (azul-verde), PB (púrpura-azul) y RP (rojo-púrpura). Cada uno está en el punto medio de una escala de 1 a 10. Munsell definió el valor como la calidad por la que los colores de luz se pueden diferenciar de los oscuros. El valor es un eje neutro que se refiere al nivel gris del color que va desde el blanco al negro. El



croma es la calidad que distingue un tono puro de una sombra gris. El eje del croma (saturación) se extiende desde el eje del valor (luminosidad) hacia el tono puro (Figura 7) (Artigas et al., 2002).

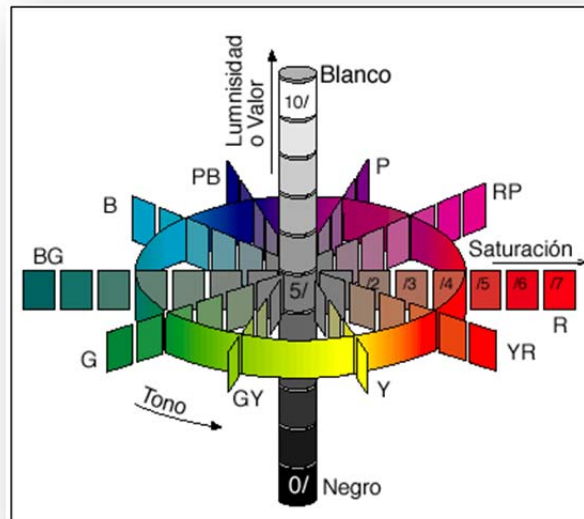


Figura 7. Sistema Munsell (Fuente: Sistema de ordenación del color munsell.2014)

- **Sistema de Color CIE**

Es un sistema tricromático, es decir, cualquier color se puede hacer coincidir mediante una mezcla adecuada de los tres colores primarios: rojo, verde y azul, que están representados por  $X$ ,  $Y$  y  $Z$ , respectivamente. (Artigas et al., 2002).

- **Espacios de color CIE  $L^*a^*b^*$  (CIELAB)**

El método CIELAB está basado en colores útiles y aceptados que describen una teoría de colores opuestos. La localización de cualquier color en el espacio de color CIELAB se determina mediante sus coordenadas de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ .  $L^*$  representa la diferencia entre la luz ( $L^* = 100$ ) y la oscuridad ( $L^* = 0$ ). La componente  $a^*$  representa la diferencia entre el verde ( $-a^*$ ) y el rojo ( $+a^*$ ) y la componente  $b^*$  representa la diferencia entre el azul ( $-b^*$ ) y el amarillo ( $+b^*$ ). Si se

conocen  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , entonces, no solamente el color está descrito sino que también está localizado en el espacio.

Los colores también se pueden localizar utilizando coordenadas cilíndricas en el espacio de color CIELAB. La versión cilíndrica del sistema  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  es calificada como espacio de color CIE  $L^*$ ,  $C^*$  y  $h^*$  y se asemeja al sistema de orden de color Munsell, correspondientes a los atributos perceptuales de luminosidad ( $L^*$ ), croma ( $C^*$ ), y tono ( $h^*$ ).  $L^*$  es la coordenada luminosidad,  $C^*$  cromaticidad es la distancia perpendicular desde la luminosidad, y  $h^*$  es el ángulo de tono expresado en grados con  $0^0$  estando colocado sobre el eje  $+a^*$ , continuando hasta  $90^0$  para el eje  $+b^*$ ,  $180^0$  para  $-a^*$ ,  $270^0$  para  $-b^*$  y retornado a  $360^0$  a  $0^0$  (Figura 8) (Artigas et al., 2002).

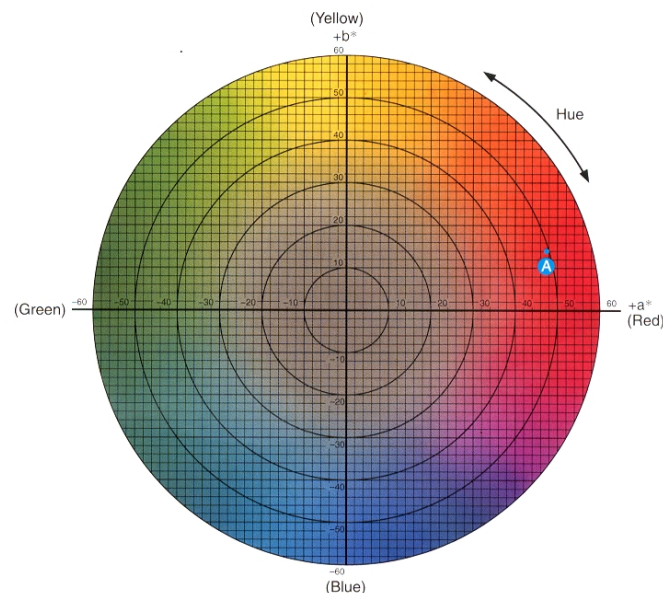


Figura 8. Espacio de color CIELAB (Fuente: Espacio del color CIELAB.2014)

Otro sistema de color que tiene la misma interpretación que éste es el espacio de color Hunter Lab.

### 2.2.3.7 Actividad antioxidante

En este apartado se explican algunos conceptos básicos para entender la determinación de actividad antioxidante.

### 2.2.3.7.1 Antioxidantes

Los antioxidantes son cualquier molécula capaz de prevenir o retardar la oxidación (pérdida de uno o más electrones) de otras moléculas, generalmente sustratos biológicos como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Festy, 2007). Son sustancias que el organismo produce de forma natural o que se encuentran en los alimentos.

Se ha comprobado, que sin duda, los antioxidantes protegen un gran número de sistemas *in vitro*, *ex-vivo* e *in vivo*, de los ataques de peligrosas sustancias, tanto endógenas como exógenas, a las cuales estamos expuestos diariamente. A estas sustancias peligrosas se las conoce como radicales libres (Zoecklein, Fugelsan, Gump, & Nury, 2000)

Los radicales libres son sustancias químicas que tienen un electrón desapareado o no compartido. A causa de estos electrones, los radicales libres son algo inestables, es decir, tienen corta vida, son también altamente reactivos en virtud del hecho de que para conseguir su estabilidad química tratan de perder o ganar un electrón. También se ha comprobado la relación que existe entre los radicales libres y ciertas enfermedades de carácter degenerativo como alteraciones del aparato circulatorio, del sistema nervioso, otras enfermedades como el cáncer, SIDA, o el envejecimiento precoz. Esto se produce por una alteración del ADN a causa de los radicales libres, impidiendo la renovación celular o alterando su normal funcionamiento (Youngson, 1994).

Según Rice- Evans et al., (1997) para que un compuesto sea definido como antioxidante debe de cumplir cuatro condiciones básicas:

1. Su reactividad como un donador de hidrógenos o de electrones (que se relaciona con su potencial reductor)
2. El radical libre formado después de prevenir la oxidación debe de ser estable mediante un enlace de hidrógeno intramolecular.
3. Su reactividad con otros antioxidantes; por ejemplo regenerando a algún otro agente reductor.
4. Su potencial como agentes quelantes de metales.

Desde los clásicos artículos de Harman en 1956, y Tappel en 1968 en los que se afirmó que los antioxidantes podrían proporcionar longevidad (Zoecklein et al., 2000) han sido muchos los estudios realizados sobre este tema.

#### **2.2.3.7.2 Estrés oxidativo**

En las células y en los organismos, en condiciones normales, se mantiene un balance entre la producción de radicales libres y especies reactivas con los sistemas antioxidantes, de manera tal que la toxicidad por oxidación es limitada. Aún este limitado daño es parcialmente responsable del envejecimiento natural de las células y los organismos. Sin embargo, se considera que la agresión oxidativa alcanza niveles patológicos cuando se rompe el balance entre ella y la eficacia de los sistemas amortiguadores antioxidantes, lo cual se puede producir por un déficit de antioxidantes o por un incremento en la producción de las especies reactivas (Quintanar & Calderon., 2009)

Existe un número de datos experimentales, clínicos y epidemiológicos que demuestran los efectos beneficiosos de los antioxidantes, frente a las enfermedades degenerativas inducidas por el estrés oxidativo y las enfermedades relacionadas con la edad (cáncer y envejecimiento) (Pokorny, Yanishliev, & Gordon, 2004) al igual que la disfunción cardiovascular, reumatismo, diabetes, artritis, reumatismo, enfisema pulmonar, dermatitis, cataratas (Contessa, Mellano, Beccaro, Giusiano, & Botta, 2013; Li Fu et al., 2011), parkinson's y alzheimer's (Beserra Almeida et al., 2011).

#### **2.2.3.7.3 Antioxidantes en frutas**

Los datos sobre la actividad antioxidante de los frutos y las bayas, sus zumos y vinos, varían en función del tipo del modelo de oxidación utilizado y de los métodos de análisis de los compuestos antioxidantes. La literatura se centra en gran medida en la capacidad antioxidante de los flavonoides y de los compuestos fenólicos aislados en los vegetales, aunque, el ácido ascórbico, los carotenoides y los tocoferoles también contribuyen a dicha actividad (Pokorny et al., 2004).

Existen muchos estudios que demuestran que el consumo de frutas y hortalizas previenen enfermedades causadas por el estrés oxidativo y la correlación que existe entre el consumo diario de frutas y la disminución de riesgo de enfermedades como: cáncer, envejecimiento, al igual que la disfunción cardiovascular, reumatismo, diabetes, artritis, reumatismo, enfisema pulmonar, dermatitis, cataratas. El efecto protector se relaciona con los microelementos de los antioxidantes de las frutas y hortalizas. Las frutas presentan diferentes capacidades antioxidantes de acuerdo con su contenido de polifenoles, vitamina C, E, carotenoides y flavonoides (Alothman, Rajeev Bhat, & Karim, 2009).

#### **2.2.3.7.5 Métodos de determinación de actividad antioxidante**

La capacidad antioxidante es un parámetro que puede ofrecer una idea de cómo se encuentra el conjunto de la respuesta antioxidante ante cada agresor oxidativo en cada sistema. La evaluación depende del fluido, tejido o célula que se pretenda estudiar, ya que cada uno de los ambientes tiene diferentes sistemas antioxidantes y una integración diferente. Así mismo, el tipo de sistema antioxidante predominante es heterogéneo y se debe de considerar para saber efectivamente que se está midiendo.

Las técnicas desarrolladas para medir la capacidad antioxidante total valoran la habilidad de los compuestos antioxidantes (donantes de un hidrógeno o un electrón) presentes en la muestra, para reducir las especies oxidantes introducidas en el sistema de ensayo; por los que se los clasifica como métodos de inhibición directos o indirectos del poder oxidante de una molécula estándar determinada que es el iniciador (Quintanar & Calderon., 2009).

Los métodos de determinación de la actividad antioxidante total se basan en comprobar cómo un agente oxidante induce daño oxidativo a un sustrato oxidable, daño que es inhibido o reducido en presencia de un antioxidante. Esta

inhibición es proporcional a la actividad antioxidante del compuesto o de la muestra. Por otra parte, hay ensayos que se basan en la cuantificación de los productos formados tras el proceso oxidativo (Pokorny et al., 2004)

El creciente interés por los posibles efectos beneficiosos de los antioxidantes; ha hecho que se desarrollen una gran capacidad de métodos para determinar la capacidad antioxidante de extractos de alimentos. Se han planteado una serie de condiciones que deberían reunir un procedimiento estandarizado de medida de capacidad antioxidante *in vitro*:

- Evaluar reacciones de transferencia de electrones y de átomo de hidrógeno
- Especificar el sustrato de oxidación
- Medir reacciones químicas que de hecho ocurran en reacciones potenciales, es decir, asegurar que el sustrato y el modo de inducir la oxidación son relevantes como fuentes de daño oxidativo.
- Ser sencillo.
- Tener un mecanismo y un punto final definido.
- Poseer una instrumentación más o menos disponible.
- Tener una buena reproducibilidad entre días.
- Ser adaptable para medir antioxidante hidrofílicos y lipofílicos.
- Usar distintas fuentes de radicales.
- Ser adaptable para análisis rutinarios a gran escala. (Larrea, 2012).

Los distintos métodos difieren en el agente oxidante, en el sustrato empleado, en el tiempo de evaluación, en la técnica instrumental utilizada, la sensibilidad y en las interacciones de la muestra con el medio de reacción. En la bibliografía, se ha encontrado, diferentes métodos para medir la capacidad antioxidante en alimentos, los más utilizados son: ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power, y TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) o ABTS (ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico).

- **Método ABTS 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico**

El radical ABTS se genera a partir del ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico. Este ensayo se basa en la decoloración que se produce cuando el catión ABTS<sup>+</sup> se reduce a ABTS<sup>·</sup>. El radical ABTS es de color verde-azulado intenso, y su espectro de absorción está en el UV-visible. Es un método que se puede realizar tanto en muestras hidrosolubles como liposolubles, siempre eligiendo el disolvente apropiado para cada caso.

- **Método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)**

Consiste en la medida de la captación de absorción de radicales de oxígeno. El método usa la medición del área bajo la curva, combinando así el tiempo de inhibición y el grado de inhibición de la acción de los radicales libres por un antioxidante a una determinada concentración. Este método puede utilizar diferentes tipos de radicales libres (radicales peróxidos lipídicos, radicales hidroxilo, anión superóxido, etc) (Pokorny et al., 2004)

- **FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)**

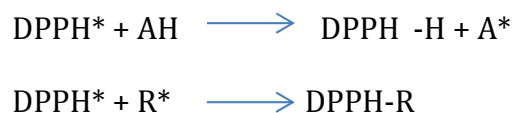
Este método está basado en la habilidad de los compuestos fenólicos para reducir el complejo de la tripiridiltriazina férrica (Fe (III)-TPTZ), de color amarillo, al complejo ferroso (Fe (II)-TPTZ), de color azul, mediante la donación de electrones (SET) (Benzie *et al*, 1999). El color azul resultante se puede medir espectrofotométricamente a una longitud de onda de 593 nm a los 4 minutos del comienzo de la reacción obteniéndose una relación lineal respecto a su capacidad de donar electrones. Al igual que el método DPPH los resultados se expresan en equivalentes de Trolox (Serrano, 2013)

- **Método DPPH 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl**

El DPPH es un radical libre, se mide la captación de este radical a través de la disminución de la absorbancia, medida a 515 nm, que se produce por reducción

de un antioxidante (AH) o por reacción con especies radicales (R<sup>+</sup>) cuando sufre ésta reducción, la absorción desaparece.

El modelo que explica la actividad de un compuesto anti-radical es el siguiente:



El método DPPH se ha utilizado para medir la captación de radicales después de 15 o 30 min de iniciada la reacción. Los resultados se expresan en equivalentes de Trolox ( $\mu\text{mol Trolox/g}$  o  $\mu\text{mol Trolox/L}$ ), tras elaborar una curva de calibrado de este compuesto, un análogo hidrosoluble de la vitamina E muy utilizado en la expresión de resultados de capacidad antioxidante.

### **Ventajas**

Este método es técnicamente simple y rápido y únicamente es necesario un espectrofotómetro UV-Vis. A pesar de que el método propuesto por Brand-Williams se llevaba a cabo mediante cubetas, se ha demostrado la posibilidad de llevar a cabo este proceso mediante microplacas (Herald, 2012). Sin embargo, investigaciones recientes de nuestro grupo de trabajo han observado que el método realizado mediante microplacas sólo es estadísticamente equivalente al método de cubetas cuando las muestras analizadas se sitúen en un intervalo de concentración equivalente a 220-320  $\mu\text{M}$  Trolox. Estas ventajas explican el extendido uso que este método tiene actualmente en el análisis de la actividad antioxidante en alimentos (Fukumoto y Mazza, 2000).

### **Desventajas**

El DPPH sólo puede ser disuelto en medios orgánicos (especialmente alcoholes) y no en medios acuosos, lo cual supone una importante limitación al interpretar el papel de los antioxidantes hidrofílicos (Arnao, 2000).

Además, la medida de la absorbancia a 517 nm tras la reacción comienza a decrecer en presencia de luz (Ozcelik *et al*, 2003), oxígeno y ciertos solventes



(Apak *et al.*, 2004). Magalhaes *et al.* en 2008 demostraron que por encima de una cantidad de agua en el solvente, la actividad antioxidante disminuye ya que una parte del DPPH coagula y no es fácilmente accesible para los antioxidantes.

Por otro lado, la absorbancia a 515 nm puede interferir con la de otros compuestos, como los carotenoides, con lo que se subestimaría el DPPH remanente y, por tanto, la capacidad antioxidante de la muestra (Prior, Wu *et al.* 2005).

#### **2.2.4 Caracterización Físico-química del ovo**

En la bibliografía, existe poca información publicada de *Spondias purpurea L.* de Ambuquí. Koziol & Macía (1998) en su publicación sobre composición química y evaluación nutrición de *S. purpurea L.* informa que *S. purpurea L.* tiene el valor más alto (74 kcal/100g de porción comestible) de densidad calórica frente a otras frutas analizadas como: el melocotón, albaricoque, ciruela, mango y cereza, también cuenta con cantidades relativamente altas de almidón en el mesocarpio, representa una fuente regular de potasio (250 mg/100 g de porción comestible), y una excelente fuente de vitamina C (49 mg/ 100 g). También Macía y & Barfod (2000) informan valores medios de *S. purpurea L.* de Ambuquí en estado maduro con respecto a largo, ancho y peso de: (3,3 cm, 2,4 cm y 8,9 g) respectivamente.

Vasco *et al.*, (2008) realizan un estudio de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante de las principales frutas de Ecuador en donde caracterizan física y químicamente a diecisiete frutas de Ecuador y reporta valores para (*S. mombin L.*), que es la especie de ovo producida en la costa del Ecuador de 3 – 4,5 cm de largo, 2,5 – 4 cm de ancho, porcentaje de humedad de 77 – 88 % y 11,2 – 18,6 °Brix. Con respecto a la actividad antioxidante de la especie *S. mombin L.* informa que es baja en relación a otras frutas como: el capulí, plátano, fruta de la pasión y zarza mora, pero, tiene valores similares a la ciruela, chirimoya, zapote y fresa.

Los estudios encontrados sobre ovo *S. purpurea L.* de Ecuador se limitan a trabajos fin de carrera en algunas universidades de Ecuador. Chamorro & Herrera (2012) realizaron un estudio sobre la obtención de vinagre a partir del ovo de

Ambuquí en diferentes estados de maduración, en el que informan datos de pH y sólidos solubles de (2,01 y 0,9 °Brix en ovo verde y 2,66 y 24 °Brix en ovo maduro) respectivamente; siendo la concentración de sólidos solubles y pH directamente proporcional entre sí, a medida que aumenta el pH aumenta la cantidad de sólidos totales.

Hay algunos estudios de *S. purpurea* producidos en México que se han publicado en revistas de ámbito nacional. Vargas et al., (2011) estudiaron las diferencias que existen entre las especies que se producían en tres provincias de México (criolla y tuxpana). Reportó valores para *S. purpurea* L (tuxpana) con respecto al diámetro longitudinal, axial y peso de ovo *S. purpurea* L. en estado maduro de: (3,3 cm, 2,2 cm y 16,3 g) respectivamente, siendo ésta especie la que presenta un diámetro Longitudinal ya axial mayor que la otra especie.

También en Venezuela, Guerrero et al., (2011) informan de valores de *S. purpurea* L en estado maduro de dos cosechas diferentes reportando valores de pH, AV, SST, peso y longitud diagonal y axial de: (3,2, 4,7 °Brix, 0,39 g ácido cítrico/100 g de pulpa 9,4 g, 2,1 cm y 2,5 cm respectivamente) para la primera cosecha y (3,2 °Brix, 0,26 g ácido cítrico/100 g de pulpa 11,3 g, 2,2 cm y 2,6 cm respectivamente) para la segunda cosecha, concluyendo que no hay diferencias significativas entre las dos cosechas.

En lo que respecta a la relación que existe entre el grado de maduración y las características de *S. purpurea* L. en Brasil Bezerra et al., (2011) analizaron diferentes parámetros (pH, SST, AV, peso y diámetros) en seis estados de maduración (de verde a madura) y observaron que los frutos tenían un aumento significativo en los parámetros de peso, longitud, diámetro y volumen hasta el tercer estado de maduración y una disminución en las otras etapas de maduración, lo que confirma la falta de uniformidad de la fruta en las últimas etapas de maduración. Con respecto a los SST y AV observaron un aumento significativo en las últimas etapas de maduración.

Torres et al. (2013) estudiaron la relación del color y estado de madurez con las propiedades fisicoquímicas de frutas tropicales y concluyeron que el pH es influenciado por el aumento del estado de madurez, en todas las frutas estudiadas

(mango, maracuyá y papaya); un incremento en el estado de madurez ocasiona un aumento en el pH y una disminución de la acidez valorable. También observaron que en todas las frutas evaluadas, a medida que avanza el estado de madurez se presenta un aumento de los SST. Este comportamiento en los sólidos solubles, se explica por la hidrólisis de diversos polisacáridos estructurales tales como almidón, pectinas de la pared celular, hasta sus componentes monoméricos básicos, por lo cual se acumulan azúcares, principalmente glucosa, fructosa y sacarosa (Arrieta et al., 2006) que son los constituyentes principales de los sólidos solubles.

### 3.- OBJETIVOS

El objetivo principal de este estudio es realizar una caracterización físico-química del ovo (*S. purpurea* L.) de Ambuquí en distintos estados de maduración, ya que es un fruto que se consume tanto si está o no maduro y no existen estudios con respecto a este tema en la literatura científica. Y determinar la relación que existe entre el color del fruto y los parámetros de caracterización.

Esta caracterización del ovo de Ambuquí comprenderá:

- La medida de las dimensiones y el peso del fruto.
- La determinación de los parámetros básicos de la pulpa (pH, acidez valorable, sólidos solubles totales y humedad).
- Determinación de la actividad antioxidante.
- La medida del color del fruto.

Una vez realizada la caracterización se verificará si los parámetros de color medidos corresponden a la clasificación visual realizada previamente.

Se estudiarán los parámetros determinados como indicadores de maduración, seleccionando aquellos que mejor pueden servir para seguir dicho estado de madurez y clasificar los ovos en función de la misma. También se establecerá la relación entre el color del fruto y los otros parámetros determinados.

## 4.-DISEÑO EXPERIMENTAL

A continuación se muestra el diseño experimental utilizado en este estudio para cumplir los dos objetivos planteados.

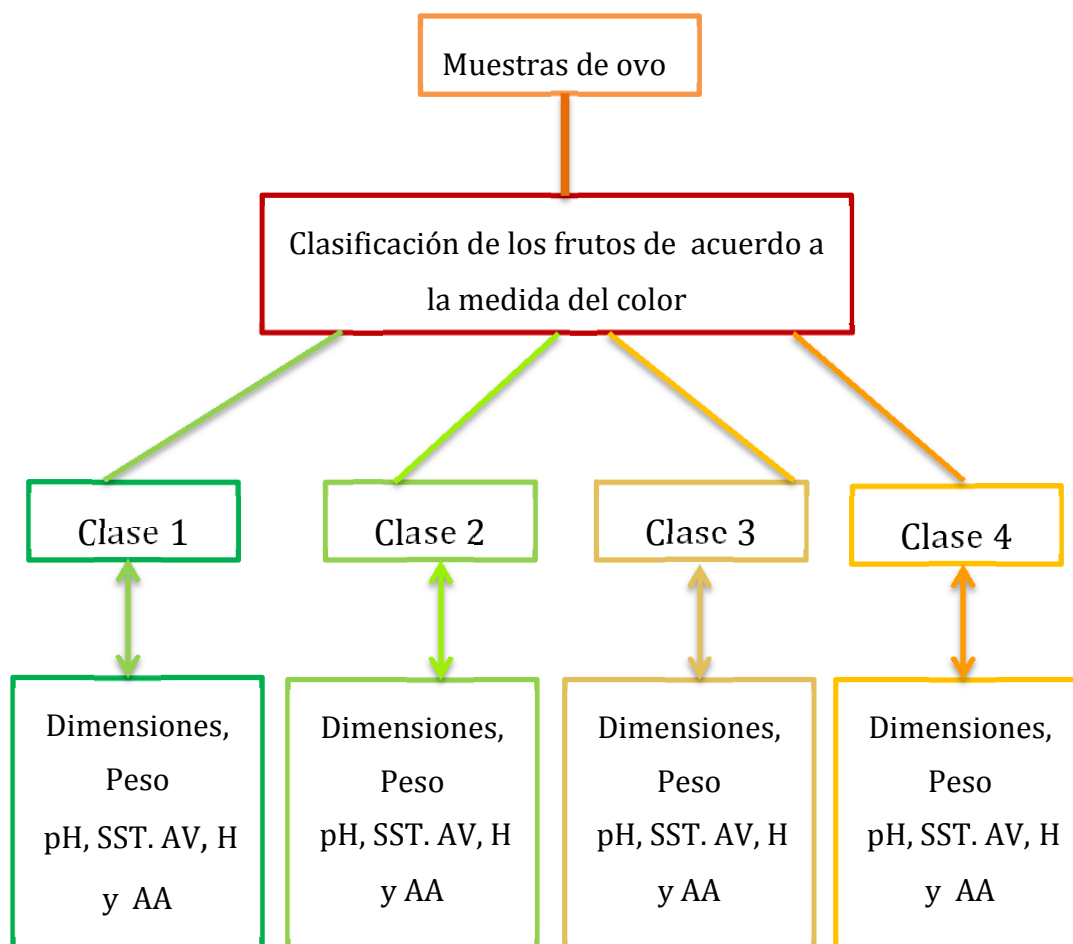


Figura 9. Diseño experimental. SST: sólidos solubles totales, AV: acidez valorable, H: humedad, AA: actividad antioxidante

## 4.- MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 MUESTRAS DE OVOS

En marzo del 2014, se compraron 10 kg de ovos en un mercado popular de la localidad de Ambuquí - Ecuador en distintos estados de maduración, los ovos se transportaron vía aérea al Departamento de Tecnología de Alimentos de la Universidad Pública de Navarra. El día de la llegada los frutos se realizaron los siguientes análisis en los ovos frescos:

- Análisis físicos: color, peso y diámetros.
- Análisis químicos: determinación de SST, pH, acidez valorable.

Los frutos que no se utilizaron en los análisis anteriores se congelaron a - 20 °C para realizar el resto de análisis.

#### 4.1.1 Pre-tratamiento de las muestras para medir el peso, diámetros, pH, SST y AV

Se seleccionaron los frutos sin manchas o daños y se clasificaron en cuatro grupos de acuerdo a la apreciación visual del color. De cada uno de estos grupos se tomaron 30 frutos al azar y el resto se congelaron a - 20 °C.

Para medir los diámetros y el peso de los ovos se quitó la parte del pedúnculo que quedaba en los frutos. Se exprimieron entre 8 y 10 frutos de forma manual de cada clase seleccionada, con el líquido se realizaron los análisis de pH, SST y AV, la piel se congeló a - 20 °C y el hueso se eliminó. Los ovos restantes se congelaron a - 20 °C para realizar la determinación de humedad y capacidad antioxidante.

## 4.1.2 Pre-tratamiento para la obtención de extractos para AA.

### 4.1.2.1 Secado de las muestras por liofilización

Las muestras de cada clase de ovo se trituraron en un molinillo de café y se liofilizaron en un equipo semi-industrial LYOBETA-25. El proceso duró 22 horas con las siguientes condiciones:

- **Congelación:** Se obtiene por un descenso de la temperatura de inicio hasta  $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$  en 30 min y se mantiene esa temperatura durante 10 horas.
- **Secado:** Se realiza pasando de  $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  en 30 min con un vacío de 0.250 mbar y se mantiene a  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  y 0.250 mbar durante 11 horas.

Inmediatamente, después, de liofilizar las muestras, se molieron con el molinillo de café y se tamizaron en un tamiz mecánico de  $450\text{ }\mu\text{m}$  de poro durante 10 min a una potencia del 80 %, las partículas que no pasaron por el tamiz se volvieron a moler y a tamizar en las mismas condiciones anteriores.

Las partículas menores de  $450\text{ }\mu\text{m}$  se guardaron con nitrógeno líquido en tubos de plástico identificados para cada clase en un congelador a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su próximo uso. En la Tabla 1 se muestra el peso de las muestras antes y después de tamizar.

Tabla 1. Peso en g de las muestras liofilizadas antes y después de tamizar

	Antes de tamizar	Después de tamizar	Resto
<b>Clase 1</b>	7,37	6,38	0,38
<b>Clase 2</b>	7,98	6,88	0,49
<b>Clase 3</b>	9,08	7,80	0,87
<b>Clase 4</b>	6,32	5,43	0,45

#### 4.1.2.2 Extracción sólido-líquido

El método de extracción utilizado es el descrito por Vasco et al. (Vasco *et al.*, 2008). Se pesaron 0,5 g de las muestras liofilizadas y se extrajo a una temperatura de 30 °C bajo agitación continua durante 1 hora, primero con 20 ml de una mezcla de metanol: agua (50: 50 v/v) y luego con 20 ml de una mezcla de acetona: agua (70: 30 v/v) con centrifugación intermitente (4000 rpm, durante 15 min en una centrífuga modelo Selecta Medifriger BL-S 7001377 con rotor oscilante). Los sobrenadantes se agruparon en matraces volumétricos de 50 ml y se enrasaron con agua destilada.

Para realizar la agitación las muestras se colocaron en un agitador rotatorio a 300 rpm y para controlar la temperatura de 30 °C se introdujo el agitador con las muestras dentro de una estufa J.P. selecta.

Las extracciones se realizaron por triplicado para cada clase de ovo y se refrigeraron a 7 °C hasta el próximo análisis. Los tubos en los que se guardó los extractos se marcaron de la siguiente manera: Clase1.1, Clase1.2, Clase1.3; Clase 2.1, Clase2.2, Clase2.3, Clase3.1, Clase3.2, Clase3.3, Clase4.1, Clase4.2, Clase4.3.

## 4.2 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

### 4.2.1 Color

En primer lugar se valoró el color de manera visual en una Cabina Macbeth Spectra light III con Daylight (D65) para clasificarlos de acuerdo a su color, al ser una medida subjetiva, ya que depende de la percepción de color de cada persona, se confirmó la estimación visual con una medida instrumental.

Luego se midió la reflectancia entre 360 y 740 nm de 30 frutos tomados al azar de la clasificación realizada visualmente utilizando un espectrofotómetro Minolta CM-2500D con un iluminante D65 y con un observador de 10 °; las medidas fueron realizadas en tres puntos de la sección axial, (4 clases x 30 frutos x 3 medidas = 360 medidas), para obtener los valores de las coordenadas CIELAB (L\*, a\*, b\*, C\* y h).



Los frutos se distribuyeron en cuatro clases de acuerdo a los valores obtenidos de  $a^*$  y  $b^*$  siendo: clase 1 (verde), clase 2 (+verde – naranja), clase 3 (-verde + naranja) y clase 4 (naranja-rojizo).

Por último se valoró el color por comparación con el sistema Munsell dentro de la cabina de iluminación mencionada anteriormente.

#### **4.2.2 Peso**

Se tomaron 10 frutos al azar de cada clase y se pesaron en una balanza analítica Cobos ST-300C con una sensibilidad de 0,01 g y los resultados se expresaron en gramos.

#### **4.2.3 Dimensiones**

Los diámetros longitudinal y axial se midieron con un pie de rey Mitutoyo 500-267V CDL- 20CP en 10 frutos de cada clase, tomados al azar; los resultados se expresaron en mm.

#### **4.2.4 pH**

De cada clase de *S. purpurea* L se extrajeron 25 ml de líquido; el pH se midió con un potenciómetro digital Crison GLP 22 mediante inmersión directa del electrodo en la muestra realizándose la medición por triplicado.

#### **4.2.5 Sólidos solubles totales (SST)**

Los SST se midieron en un refractómetro RX – 700 CX por lectura directa. Se colocó una pequeña cantidad del zumo claro de ovo en el refractómetro previamente calibrado, y se realizó la lectura en  $^{\circ}$  Brix a  $20^{\circ}$  C, por triplicado.

#### **4.2.6 Acidez Valorable (AV)**

Para la medición de la acidez valorable se siguió el procedimiento de la norma UNE 34-211-81 utilizando 10 ml del zumo de ovo. El procedimiento consiste en una valoración con NaOH 0,1 N hasta llegar a pH 8,2. Para la determinación del punto final de pH se utilizó un potenciómetro Crison GLP 22. Se

midió por triplicado y los resultados se expresaron en miliequivalentes por 100 ml de producto. Para el cálculo de la acidez valorable se utilizó la ecuación 1.

$$AV = \frac{1000 \times V1 \times c}{V0} \quad (1)$$

En donde:

- AV = acidez valorable, expresada en miliequivalentes por 100 ml de producto.
- V0 = volumen, en mililitros, de la toma para el ensayo.
- V1 = volumen, en mililitros, de la solución de hidróxido sódico, utilizada para la determinación.
- c = concentración exacta en cantidad de materia, en moles por litro, de la solución de hidróxido sódico.

**Otras modalidades de expresión:** igualmente es también posible expresar, convencionalmente, la acidez valorable en gramos de ácido por 100 g o por 100 ml de producto, según el caso, multiplicando por el factor correspondiente al ácido.

Nombre del ácido	Factor
Ácido málico	0,067
Ácido oxálico	0,045
Ácido cítrico monohidratado	0,070
Ácido tartárico	0,075
Ácido sulfúrico	0,049
Ácido acético	0,060
Ácido láctico	0,090

### 4.2.7 Humedad (H)

Se determinó la humedad en 2 g de las muestras de ovo (pulpa y piel) congelado, se trituraron en un molinillo de café y se determinó el contenido de humedad en una balanza con cámara de desecación Gram ST-H50. La medida se realizó por duplicado y el resultado se expresó como porcentaje. Para el cálculo de la humedad se utilizó la ecuación 2.

$$H = \frac{\text{peso perdido}}{\text{peso inicial}} \times 100 \quad (2)$$

En donde:

- H = humedad, en porcentaje
- Peso perdido = peso inicial – peso final, en gramos.

### 4.2.8 Actividad antioxidante (AA) por DPPH

Para determinar el ensayo de DPPH se siguió el método puesto a punto en el laboratorio de Tecnología de Alimentos de la UPNA (Bobo et al., 2014). Un total de 20 µL de la muestra diluida se añadió a 180 µL de la solución de DPPH (Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical) (150 µM/l) metanol: agua (80: 20 v/v) y se agitó durante 60 s en un microplacas de 96 pocillos (Nunc). Después de 40 min en la oscuridad a 25 °C se midió la absorbancia a 515 nm en el lector de microplacas del espectrofotómetro Thermo Scientific Multiskan GO.

En primer lugar se realiza el cálculo del porcentaje de inhibición de DPPH utilizando la ecuación 3.

$$\% \text{ de Inhibición} = \left(1 - \frac{A_{\text{muestra}} - A_{\text{blanco}}}{A_{\text{control}} - A_{\text{blanco}}}\right) \times 100 \quad (3)$$

En donde:

- $A_{\text{muestra}}$  = Absorbancia a 515 nm de 20 µL del extracto de la muestra con 180 µL de la solución DPPH después de 40 min.

- $A_{\text{blanco}}$  = Absorbancia a 515 nm de 20  $\mu\text{L}$  de agua (o disolvente en el que se extrajo la muestra) con una solución de 180  $\mu\text{L}$  de metanol: agua (80: 20 v/v) después de 40 min.
- $A_{\text{control}}$  = Absorbancia a 515 nm de 20  $\mu\text{L}$  de agua(o disolvente en el que se extrajo la muestra) con una solución de 180  $\mu\text{L}$  de DPPH después de 40 min.

En este caso se utilizó un blanco de muestra porque la muestra tenía un color amarillento. Se leyó la absorbancia a 515 nm de 20  $\mu\text{L}$  del extracto de la muestra con una solución de 180  $\mu\text{L}$  de DPPH después de 40 min y se restó a la absorbancia de la muestra correspondiente.

Para cuantificar la actividad antioxidante presente en la muestra se realizó una curva de calibrado; se utilizó Trolox entre 50 – 500  $\mu\text{M}/\text{L}$ . La concentración de AA se midió por triplicado (4 clases x 3 repeticiones x 3 lecturas. Total 36 lecturas) y los resultados se expresaron en micromoles de Trolox por g de materia seca.

### 4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con los resultados obtenidos se realizaron análisis ANOVA para explorar las posibles diferencias significativas (nivel de confianza al 95 %) en los parámetros analizados, entre las cuatro clases de ovos.

Se realizaron análisis multivariantes (correlaciones lineales y componentes principales) para estudiar las relaciones entre las variables de color y el resto de parámetros medidos (peso, dimensiones, pH, SST, H, AV, AA) y para identificar las variables más explicativas de la variabilidad total.

Finalmente se realizó un análisis discriminante para obtener las funciones que permiten clasificar los ovos en grupos. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa estadístico STATGRAPHICS Centurion XVI.I. (Statistical Software Corp.).

## 5.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS

#### 5.1.1 Color

En la Figura 10 se muestra el resultado de la clasificación visual realizada, de acuerdo al estado de maduración del ovo; se observa la diferencia del tono de color entre las cuatro clases obtenidas.



Figura 10. Clasificación visual, seleccionada, de acuerdo al color de *S purpurea* L, clase 1 (verde), clase 2 (+verde – naranja), clase 3 (+naranja – verde), clase 4 (naranja rojizo).

En el gráfico de reflectancia (Figura 11) se puede observar que en los pigmentos rojos a partir de 550 nm su absorción es nula, todo es reflectancia mientras que la clorofila en la zona de 670 – 680 nm es donde menor reflectancia tiene. A medida que maduran los frutos disminuye la clorofila y aumenta la reflectancia en una longitud de onda de 670 – 680 nm. Sin embargo al final del espectro los pigmentos verdes y rojos no absorben, tienen el máximo de reflectancia.

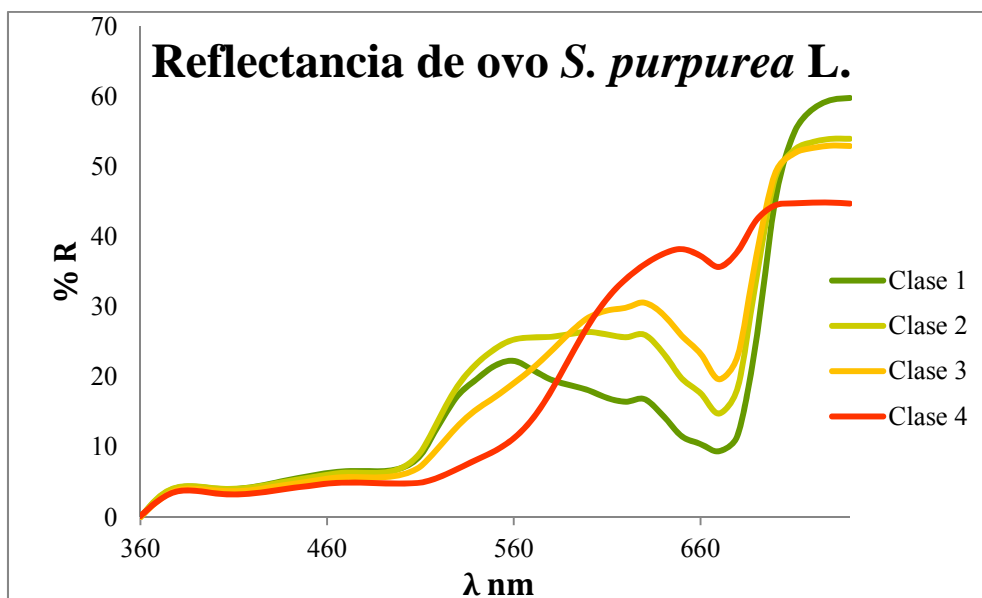


Figura 11. Reflectancia de las cuatro clases de ovo clase 1(verde), clase 2 (+verde - naranja), clase 3 (-verde + naranja), clase 4 (naranja rojizo)

La diferencia entre la reflectancia a partir de 740 nm, que es el final del espectro, y 670 nm, que es donde la clorofila tiene menor reflectancia, disminuye a medida que madura el fruto esto explica la variabilidad del 60 % que se observa en esta variable, los valores se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Valores medios de la diferencia de reflectancia entre 740 y 670 nm de *S. purpurea* L

	670 nm	740 nm	Diferencia
<b>CLASE 1</b>	9,86	61,3	51,44
<b>CLASE 2</b>	12,31	59,37	47,06
<b>CLASE 3</b>	18,12	57,78	39,66
<b>CLASE 4</b>	34,57	38,94	4,37
<b>DER (%)</b>			<b>60,06</b>

De la medida instrumental, también, obtenemos los valores para L\*, a\*, b\* que se muestra en la Tabla 3.

Con los valores de  $a^*$ ,  $b^*$  y  $L^*$  podemos ubicar a cada clase de ovo en la posición del color, correspondiente, en el diagrama de color como se observa en la Figura 12. Podemos observar que varía el color desde verde hasta naranja de la misma manera que sucede en el proceso de maduración de las frutas.

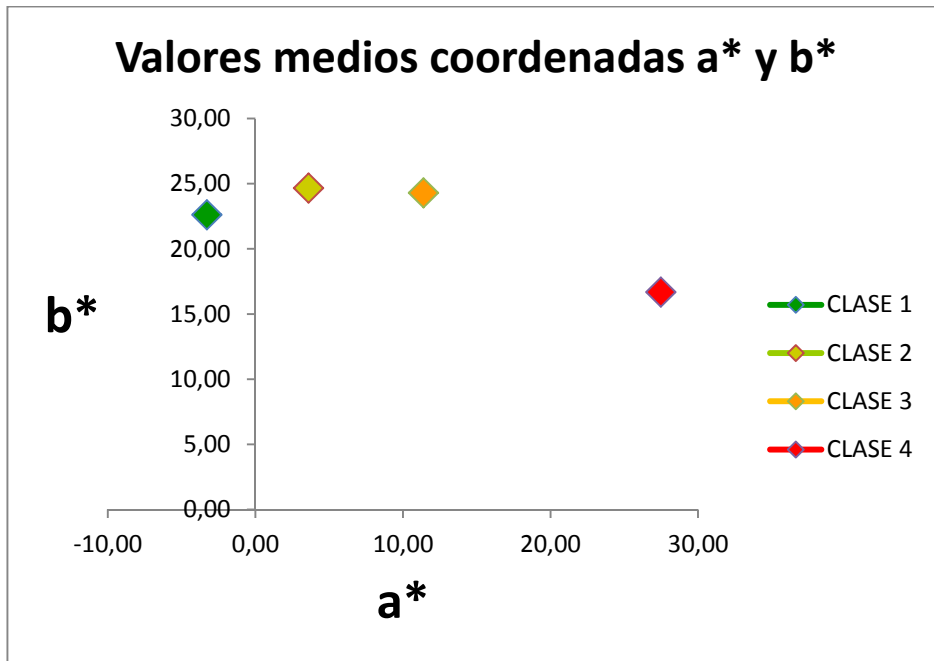


Figura 12. Ubicación de los valores medios de  $a^*$  y  $b^*$  en el plano.

La componente de color con mayor variación es la de la coordenada  $a^*$  (135,05 %), esto se atribuye a que los frutos medidos variaron del color verde (-3,29), amarillo (3,60), naranja (11,38) hasta rojo (27,48). El valor de la componente de color  $b^*$  tiene una variabilidad del 16,76 % entre las cuatro clases de ovo, esto se explica que no existe mucha variación del color amarillo entre las clases de ovo, siendo 24,67 (clase 2) el valor más alto y 16,69 (clase 4) el valor más pequeño.  $L^*$  es la componente de color con el valor de variabilidad más bajo con respecto a las otras componentes y esto se debe a que  $L^*$  en las cuatro clases de ovo se encuentra en un punto intermedio, es decir, que los ovos no son ni tan blancos ni tan oscuros.

Estadísticamente existe una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre las cuatro clases con respecto al valor de  $a^*$  y  $b^*$ , la prueba de Tukey nos indica que las

cuatro clases difieren entre sí para a\*, y para b\* la clase 4 difiere de la 1, 2 y 3, con respecto a L\* estadísticamente existen diferencias significativas entre las cuatro clases de ovos, aunque, la clase 2 y la clase 3 no difieren entre sí, a un nivel de confianza del 95%.

Tabla 3. Valores medios y desviación estándar de L\* a\* b\* de las cuatro clases de ovo (n= 360)

	L*	a*	b*
<b>CLASE 1</b>	48,63 ± 1,93 <sup>a</sup>	-3,29 ± 1,95 <sup>a</sup>	22,61 ± 3,41 <sup>a</sup>
<b>CLASE 2</b>	50,15 ± 2,76 <sup>b</sup>	3,60 ± 2,76 <sup>b</sup>	24,67 ± 4,31 <sup>a</sup>
<b>CLASE 3</b>	51,37 ± 2,63 <sup>b</sup>	11,38 ± 3,13 <sup>c</sup>	24,30 ± 4,95 <sup>a</sup>
<b>CLASE 4</b>	43,02 ± 5,10 <sup>c</sup>	27,48 ± 5,54 <sup>d</sup>	16,69 ± 7,65 <sup>b</sup>
<b>Valor p</b>	0,0000	0,0000	0,0000
<b>DER (%)</b>	<b>7,64</b>	<b>135,05</b>	<b>16,76</b>

Letras diferentes indican diferencias significativas entre clases, de acuerdo con la prueba de Tukey.

Como se mencionó anteriormente, también, se puede localizar el color mediante las coordenadas L\*, C\* y h\*.

Los datos obtenidos de C\* y h\* se muestran en la Tabla 4. La variabilidad de la componente de color C\*(chroma) es menor (15,42 %) que h\* (39,71 %) y esto se atribuye a que no hay variación del color amarillo de los ovos (como se observó en el caso anterior con respecto a la componente del color b\*). El valor de la componente h\* presenta una mayor variabilidad y esto se atribuye, como en el caso de la componente a\*, a que el color de los ovos varió desde verde hasta rojo.

Estadísticamente existen diferencias significativas entre las cuatro clases de ovo para C\* y h\*, sin embargo para C\* no hay diferencias significativas entre la clase 2 y 3, aunque en el caso de la componente b\* en la clase 1, 2 y 3 no había diferencias significativas y para h\* todas difieren entre sí de la misma manera que pasó con la componente a\*.



Tabla 4. Valores medios y desviación estándar de C\* y h\* de las cuatro clases de ovo (n= 360)

	C*	h*
<b>CLASE 1</b>	22,94 ± 3,36 <sup>a</sup>	98,48 ± 5,18 <sup>a</sup>
<b>CLASE 2</b>	25,13 ± 4,05 <sup>b</sup>	81,18 ± 7,65 <sup>b</sup>
<b>CLASE 3</b>	27,02 ± 4,90 <sup>b</sup>	64,59 ± 6,73 <sup>c</sup>
<b>CLASE 4</b>	32,64 ± 7,54 <sup>c</sup>	33,67 ± 7,94 <sup>d</sup>
<b>Valor p</b>	0,0000	0,0000
<b>DER (%)</b>	<b>15,42</b>	<b>39,71</b>

Las letras a, b, c y d representan grupos homogéneos según la prueba de Tukey (<0.05) de cada clase.

Con lo que respecta a la comparación del color de los ovos con el sistema Munsell los valores se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Valores de la comparación del color del ovo con el Sistema Munsell

	H	V	C
<b>Clase 1</b>	2,5 GY	4	12
<b>Clase 2</b>	7,5 Y	6	12
<b>Clase 3</b>	5 YR	6	8
<b>Clase 4</b>	7,5 R	5	6

Como se puede observar los valores de H son diferentes entre sí, lo que significa que el tono es diferente entre las cuatro clases de ovos. La clase 1 posee un tono intermedio entre verde y amarillo, la clase 2 sí que tiene un tono principal que es el amarillo, el tono de la clase 3 es un intermedio entre el amarillo y el rojo, y por último la clase 4 que tiene un color rojo primario, como se puede observar la

clase 1, 2 y 3 tienen al color amarillo presente, igual que en los casos anteriores para los valores obtenidos de  $a^*$  y  $h^*$ .

Con lo que respecta al valor (luminosidad) se observa que las cuatro clases de ovos presentan valores intermedios de luminosidad de una escala de entre 1 y 10, al igual que en los casos anteriores cuando se midió la coordenada  $L^*$ .

Y los valores obtenidos del croma  $C^*$  la clase 1 y 2 son las que tienen un valor máximo de croma (12) seguidos de la clase 3 y por último la clase 4. En este caso hay una diferencia con los datos obtenidos en los casos anteriores para  $b^*$  ya que la clase 3 tenía un valor de  $b^*$  superior a la clase 1 y en la comparación del ovo con el sistema Munsell la clase 1 tiene un valor mayor que la clase 3, esto se puede justificar porque es una medida visual y por lo tanto es subjetiva.

Los datos obtenidos en este estudio son comparables con los obtenidos por Tejacal et al., (2012) que obtuvieron un valor de variación de 46,4 % para el componente de color  $h^*$  cuando midieron el color de la epidermis de *S. purpurea* L. de México.

### 5.1.2 Peso

Se tomaron 10 frutos al azar de cada clase y se pesaron en una balanza con precisión de 0,01 g. En la Tabla 6 se muestra el peso medio de las cuatro clases de ovo estudiadas. El peso entre las cuatro clases varió de 5,79 g (verde) a 12,98 g (naranja rojizo). Se puede observar que el peso aumenta a medida que aumenta la madurez del fruto; como se mencionó anteriormente esto se debe, principalmente, al aporte continuo de agua hacia el fruto y a la cantidad de sólidos presentes. La variabilidad del peso de las muestras es del 17,86 %.

Estadísticamente existen diferencias significativas entre las cuatro clases de ovo con respecto al peso de las muestras ( $P < 0,05$ ), los ovos que pertenecen a la clase 4 (naranjas rojizos) son los que reportan el valor medio más alto ( $11,39 \pm 1,05$  g) al contrario que los de la clase 1 (verdes) que son los que menor peso tienen ( $7,18 \pm 1,35$  g). En la prueba de Tukey se generan subgrupos en los que se

puede observar que la clase 2 no difiere estadísticamente de la clase 1 ni de la clase 3 para un nivel de confianza del 95 % con respecto al peso de *S. purpurea*.

El valor medio obtenido en la fruta madura ( $11,39 \pm 1,05$  g) está de acuerdo con el que obtuvieron Macía & Barfod (2000) en un estudio que realizaron de *S. purpurea* en Ecuador en la misma zona, siendo sus valores de 5,5 a 15,1 g; también son similares a los obtenidos por Guerrero et al. (2011) en Venezuela (9,4 y 11,3 g); los valores del peso del ovo en estado maduro son inferiores a los obtenidos por Vargas et al. (2011) (15,5 – 24,9 g) y Tejacal et al. (2012) que obtuvieron valores entre (4,0 y 43, 2 g) al analizar 10 frutos con madurez fisiológica.

Tabla 6. Peso en g de ovo de las cuatro clases de ovos (n=40)

	<b>peso (valor medio <math>\pm</math> DS)</b>	<b>Valor mayor</b>	<b>Valor menor</b>
<b>Clase 1</b>	7,18 $\pm$ 1,35 <sup>a</sup>	9,77	5,79
<b>Clase 2</b>	8,38 $\pm$ 1,19 <sup>ab</sup>	9,87	6,99
<b>Clase 3</b>	9,17 $\pm$ 0,85 <sup>b</sup>	10,47	7,64
<b>Clase 4</b>	11,39 $\pm$ 1,05 <sup>c</sup>	12,94	7,35
<b>Valor p</b>	0,000	0,000	0,000
<b>DER (%)</b>	17,86		

Letras diferentes indican diferencias significativas entre clases, de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). DS: desviación estándar.

### 5.1.3 Diámetros longitudinal y axial

Se tomaron 10 frutos al azar de cada clase y se midieron sus diámetros longitudinal y axial. Los valores obtenidos para el tamaño del fruto, se muestran en la Tabla 7. El diámetro longitudinal varía entre 28,5 mm (verde) y 35,72 mm (naranja rojizo) y el diámetro axial entre 17,14 mm (verde) y 25,07 mm (naranja rojizo). Los valores medios nos indican que conforme va madurando el fruto, también aumenta el tamaño.

Estadísticamente existen diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre los diámetros longitudinales y axiales de las cuatro clases de ovos, siendo el valor medio de la clase 4 el más alto y el de la clase 1 el más bajo, tanto para el diámetro longitudinal como para el diámetro axial. Cabe señalar que en la prueba de Tukey, el diámetro longitudinal de la clase 4 es el que difiere de las otras tres clases y con respecto al diámetro axial, entre la clase 3 y 4 no hay diferencias significativas para un nivel de confianza del 95%.

Los datos obtenidos son similares a los reportados por Macia & Barfod (2000) que obtuvieron valores para ovo maduro de 3,66 cm de diámetro longitudinal y 2,93 cm de diámetro axial y para ovo verde obtuvo valores de 3,65 cm de diámetro longitudinal y 2,94 cm de diámetro axial. Son similares a los obtenidos en México por Tejacal et al., (2012) con respecto al diámetro axial de ovo maduro (24,8 mm) pero son diferentes con respecto al diámetro longitudinal de ovo maduro (28,1 mm), y son superiores a los que reportó Guerrero et al., (2011). En Venezuela que reportó valores de 2,6 cm de diámetro longitudinal para ovo maduro y 2,2 cm de diámetro axial.

Tabla 7. Diámetros, en mm, de las cuatro clases de ovos (n= 40)

	<b>D.L. (Valor medio ± DS)</b>	<b>Rango D.L.</b>	<b>D.A. (Valor medio ± DS)</b>	<b>Rango D.A.</b>
<b>Clase 1</b>	30,86 ± 1,64 <sup>a</sup>	28,5 -33,5	19,31 ± 1,56 <sup>a</sup>	17,14 -21,54
<b>Clase 2</b>	30,95 ± 1,69 <sup>a</sup>	28,6 - 33,86	21,16 ± 1,13 <sup>b</sup>	19,11 - 22,39
<b>Clase 3</b>	31,48 ± 1,56 <sup>a</sup>	29,47 - 34	23,11 ± 0,80 <sup>c</sup>	21,5 - 23,87
<b>Clase 4</b>	33,99 ± 1,60 <sup>b</sup>	30,36 -35,72	23,13± 1,73 <sup>c</sup>	19,56 -25,07
<b>Valor p</b>	0,0003		0,0000	
<b>DER (%)</b>	4,62		8,43	

Letras diferentes indican diferencias significativas entre clases, de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). DS: desviación estándar. D.L.: diámetro longitudinal, D.A.: diámetro axial.

### 5.1.4 pH

El pH se midió sobre 25 ml del zumo extraído de un conjunto de ovos tomados al azar, de cada una de las clases. No se dispone de los valores de pH de la clase 1 debido a que, dada la rápida maduración de los frutos, los correspondientes a esta clase habían pasado a ser de la clase 2 en el momento de extraer el zumo..

Los valores de pH se muestran en la Tabla 8. El valor medio de pH de las cuatro clases de ovo varió de  $2,47 \pm 0,01$  (+ verde - naranja) a  $3,07 \pm 0,01$  (+naranja - rojizo) perteneciendo el valor más ácido a la clase 2 y el menos ácido a la clase 4 lo cual es lógico ya que los ácidos van disminuyendo con la maduración de las frutas. La variabilidad de la acidez es del 11,05 % lo que supone que todas las muestras tienen valores de pH parecidos. Existen diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre las tres clases de *S. purpurea*.

El valor de pH 3,07 de la fruta madura (clase 4) es comparable a los obtenidos por Koziol & Macía., (1998) en Ecuador (3,29), en Venezuela por Guerrero et al. (2011) que reportaron un valor de pH 3,2, y es superior al valor que reportaron en Venezuela Acevedo Ponds & García. (2012) que fue de 2,55. Algunos estudios (Bezerra et al., (2011), en un estudio similar a éste, obtienen un valor de pH de 2,63 para fruta verde y en nuestro caso ese valor es similar al obtenido en la clase 3 (+naranja que verde).

Tabla 8. Valores de pH de las diferentes clases de ovo (n= 9)

	<b>pH (Valor medio <math>\pm</math> DS)</b>
<b>Clase 1</b>	-
<b>Clase 2</b>	$2,47 \pm 0,01^a$
<b>Clase 3</b>	$2,69 \pm 0,04^b$
<b>Clase 4</b>	$3,07 \pm 0,01^c$
<b>Valor p</b>	0,000
<b>DER (%)</b>	11,05

Letras diferentes indican diferencias significativas entre clases, de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). DS: desviación estándar.

### 5.1.5 Sólidos Solubles Totales (SST)

Los SST se midieron a partir de 10 ml del zumo extraído de un conjunto de ovos tomados al azar, de cada una de las clases. En la Tabla 9 se muestran los valores medios obtenidos de SST. Se observa que el valor máximo es de  $16,63 \pm 0,05$  °Brix que pertenece a la clase 4 y el valor mínimo es  $12,01 \pm 0,22$  °Brix que pertenece a la clase 1. Esto tiene sentido porque el avance del proceso de maduración lleva a un aumento de los niveles de azúcar. La variabilidad de SST entre las cuatro clases de ovo es del 14,09 %. El análisis estadístico muestra que hay diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre las cuatro clases de *S. purpurea* L.

El valor medio de SST obtenido en la clase 4 (16,63 %) es inferior al obtenido por Koziol & Macía (1998) (18 °Brix) y al obtenido por Chamorro & Herrera (2012) (24 °Brix) en *S. purpurea* L. de Ambuquí – Ecuador. También es inferior al valor obtenido en México por Tejacal et al., (2012) (17.3 °Brix) y los valores de SST obtenidos en este estudio difieren mucho de los obtenidos en Brasil por Bezerra et al., (2011) (6,23 fruto verde y 21 para fruta madura).

Varios factores están relacionados con el contenido de SST, entre ellos: el color, el suelo, condiciones climáticas (Bezerra et al., 2011).

Tabla 9. Valores de SST en °Brix de las cuatro clases de ovo (n= 12 medidas)

	<b>SST (Valor medio <math>\pm</math> DS)</b>
<b>Clase 1</b>	$12,01 \pm 0,22$ <sup>a</sup>
<b>Clase 2</b>	$13,14 \pm 0,05$ <sup>b</sup>
<b>Clase 3</b>	$14,15 \pm 0,10$ <sup>c</sup>
<b>Clase 4</b>	$16,63 \pm 0,05$ <sup>d</sup>
<b>Valor p</b>	0,000
<b>DER (%)</b>	14,09

Letras diferentes indican diferencias significativas entre clases, de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). DS: desviación estándar. SST: Sólidos solubles totales.

### 5.1.6 Acidez Valorable (AV)

Al igual que en la determinación de pH no se reportan los datos de AV para la clase 1.

Los resultados obtenidos de la acidez valorable se muestran en la Tabla 10. Se obtuvo valores entre  $1,29 \pm 0,1$  g de ácido cítrico/100 ml de producto para la clase 2 y  $0,64 \pm 0,0$  g de ácido cítrico/100 ml de producto para la clase 4. Se observa que la reducción de ácidos se debe al avance de la maduración de los frutos. La variabilidad que existe entre las cuatro clases de ovo es de 35,09 % lo que supone que el contenido de ácidos es el parámetro en el que se produce mayor variabilidad entre las muestras. Existe una diferencia significativa ( $P < 0,05$ ) entre las cuatro clases de *S. purpurea* estudiadas.

Los valores de AV obtenidos en este estudio son similares a los obtenidos en Brasil por Bezerra et al. (2011) (0,38 % fruto maduro - 1,17 % fruto verde) en *S. purpurea* en diferentes estados de maduración y son superiores a los obtenidos en Venezuela por Guerrero et al. (2011) que reportó valores entre 0,39 - 0,26 % en fruta madura.

Tabla 10. Valores de acidez valorable en g de ácido cítrico por 100 ml de producto (n= 9)

	AV (Valor medio $\pm$ DS)
<b>Clase 1</b>	-
<b>Clase 2</b>	$1,29 \pm 0,1^a$
<b>Clase 3</b>	$0,88 \pm 0,1^b$
<b>Clase 4</b>	$0,64 \pm 0,0^c$
<b>Valor p</b>	0,000
<b>DER (%)</b>	35,09

Letras diferentes indican diferencias significativas entre clases, de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). DS: desviación estándar.

### 5.1.7 Humedad (H)

En la Tabla 11 se muestra el porcentaje de humedad obtenido para cada una de las cuatro clases de ovos. El porcentaje de variabilidad de H entre las cuatro clases de ovos es del 1% lo que indica que todas tienen un porcentaje de humedad muy similar. Estadísticamente no hay diferencias significativas entre las cuatro clases de ovos.

Tabla 11. Valores de la humedad en porcentaje de las cuatro clases de ovos (n= 8)

	<b>Humedad (Valor medio <math>\pm</math> DS)</b>
<b>Clase 1</b>	78,19 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>
<b>Clase 2</b>	77,01 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>
<b>Clase 3</b>	78,65 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>
<b>Clase 4</b>	77,37 $\pm$ 1,43 <sup>a</sup>
<b>Valor</b>	0,23
<b>DER (%)</b>	1,0

Letras diferentes indican diferencias significativas entre clases, de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). DS: desviación estándar.

### 5.1.8 Actividad Antioxidante AA

En la Figura 13 se muestra la recta de calibrado que se utilizó para cuantificar la actividad antioxidante en  $\mu$ MTrolox.



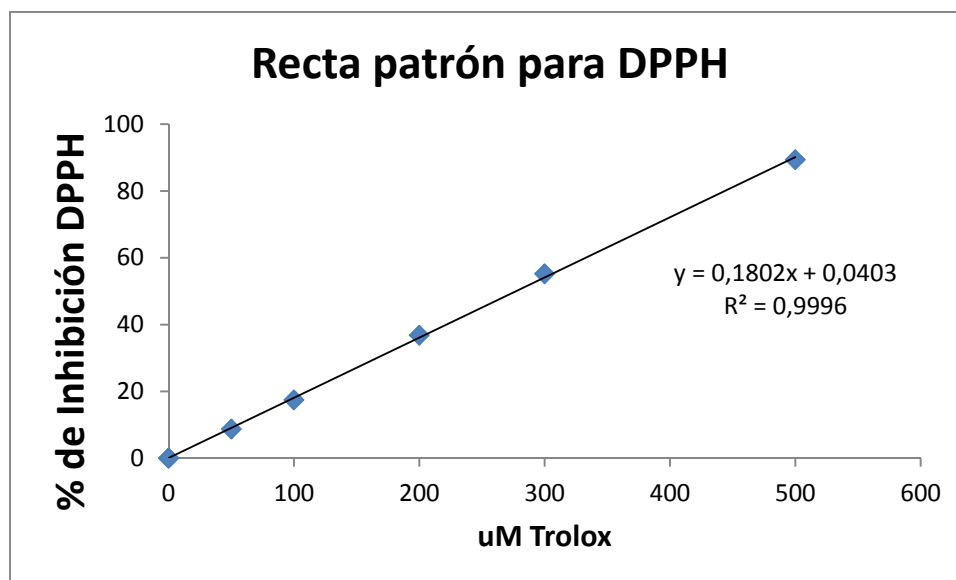


Figura 13. Recta patrón de  $\mu\text{M}$  Trolox con respecto al % de inhibición de DPPH

El porcentaje de humedad del extracto seco de las muestras, el porcentaje de inhibición de DPPH (datos necesarios para cuantificar la concentración de AA) y la concentración de actividad antioxidante de las cuatro clases de ovos se muestran en la Tabla 11. Se observa que el valor más alto de concentración de AA es de  $223,3 \pm 6,6 \mu\text{MTrolox/g}$  de extracto seco y pertenece a la clase 3 (+naranja - verde) siendo el porcentaje de inhibición del 62,12 % y el valor más pequeño de AA es de  $164,5 \pm 1,18 \mu\text{MTrolox/g}$  de extracto seco de la clase 4 (+naranja) con un porcentaje de inhibición del 46,51 %.

Estadísticamente existen diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre las cuatro clases de ovos. La prueba de Tukey nos indica que entre la clase 1 y 2 no existen diferencias significativas de la concentración de AA, para un nivel de confianza del 95%

Tabla 12. Porcentaje de inhibición de DPPH y AA en  $\mu$ MTrolox/g de extract seco de las cuatro clases de ovo. (n= 33)

	<b>Inhibición DPPH (%) (Valor medio <math>\pm</math> DS)</b>	<b>AA <math>\mu</math>MTrolox/g MS (Valor medio <math>\pm</math> DS)</b>	<b>% H de MS</b>
<b>Clase 1</b>	56,00 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	199,9 $\pm$ 3,2 <sup>a</sup>	<b>6,81</b>
<b>Clase 2</b>	59,07 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>	210,91 $\pm$ 0,41 <sup>a</sup>	<b>6,88</b>
<b>Clase 3</b>	62,5 $\pm$ 1,9 <sup>b</sup>	223,3 $\pm$ 6,6 <sup>b</sup>	<b>6,64</b>
<b>Clase 4</b>	46,52 $\pm$ 0,59 <sup>c</sup>	164,5 $\pm$ 1,2 <sup>c</sup>	<b>6,93</b>
<b>Valor p</b>	0,000	0,000	
<b>DER (%)</b>	12,28	12,68	

Letras diferentes indican diferencias significativas entre clases, de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). DS: desviación estándar.

Los resultados obtenidos sobre AA son superiores a los obtenidos en Brasil por Omena et al., (2012) quienes reportaron valores de AA de siriguela madura (ovo) de (31,89, 37,64, 6,40  $\mu$ MTrolox/gMS) para piel, semilla y pulpa, respectivamente. También son superiores, con respecto, a la otra variedad de ovo *S. mombin* L. que se produce en Ecuador, cuyos datos reportaron Vasco et al., (2008) y fueron de 37 % de inhibición de DPPH para ovo maduro.

## 5.2 CORRELACIONES ENTRE LAS COMPONENTES DE COLOR Y LOS DISTINTOS PARÁMETROS

Las correlaciones se calcularon entre los parámetros del color y cada uno de los parámetros analizados (Tabla 13).

Todas las correlaciones resultan significativas ( $p < 0,05$ ).  $L^*$ ,  $b^*$ ,  $h^*$  y difer 740-670 están inversamente correlacionadas con el peso, los diámetros longitudinal y axial, el contenido en sólidos solubles totales y el pH y directamente correlacionadas con la acidez valorable y la actividad antioxidante. Lo contrario ocurre con los valores de  $a^*$  y  $c^*$ . Las mayores correlaciones (superiores a 0,85) se

presentan entre la componente de color  $a^*$  y el peso, el diámetro longitudinal, el diámetro axial, los sólidos solubles totales, el pH y la acidez valorable. Estos mismos resultados se reflejan en las correlaciones de  $h^*$  y la diferencia de reflectancia entre 740 y 670nm (excepto para la correlación con el diámetro axial que es, en este caso, algo menor) con las variables estudiadas aunque en estos casos, en sentido inverso. Estos resultados se deben a que tanto un aumento de  $a^*$  como una disminución de  $h^*$  y de la diferencia de reflectancia implican una variación del color de verde a rojo. Esto nos indica que conforme el grupo madura aumenta el peso, los SST, los diámetros, el pH y disminuye la acidez valorable.

El resto de las correlaciones estudiadas, aunque fueron significativas se encontraron por debajo de 0,85 y por lo tanto no se consideraron relevantes.

Tabla 13. Tabla de correlaciones lineales

	L*	a*	b*	c*	h*	difer 740-670
<b>peso</b>	-0,5398	0,9664	-0,4534	0,6453	-0,9105	-0,9472
	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>D longitudinal</b>	-0,6802	0,9239	-0,5478	0,6282	-0,8528	-0,9776
	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>D axial</b>	-0,183	0,8316	-0,2175	0,5289	-0,8089	-0,6964
	0,0473	0,000	0,018	0,000	0,000	0,000
<b>SST</b>	-0,55	0,9682	-0,4636	0,6463	-0,9106	-0,9536
	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>pH</b>	-0,6844	0,9478	-0,5751	0,5602	-0,8487	-0,9556
	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>AV</b>	0,5366	-0,8924	0,4933	-0,5097	0,8064	0,8527
	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>AA</b>	0,7705	-0,6295	0,562	-0,4566	0,5533	0,7957
	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

### 5.3 ANALISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

Con el fin de reducir el espacio dimensional que permita observar los datos con la menor pérdida de información, se realizó un análisis de componentes principales. En este caso, se han extraído 2 componentes que en conjunto explican el 81,347 % de la variabilidad total de los datos y se pierde un 18,65 % de la información. Sólo con el primer componente, ya, se explica el 72,15 % (Tabla 14)

Tabla 14. Análisis de componentes principales

<b>Componente</b>			
<b>Número</b>	<i>Eigenvalor</i>	<i>Varianza</i>	<i>Acumulado</i>
<b>1</b>	7,94	72,15	72,15
<b>2</b>	1,62	14,74	86,88
<b>3</b>	0,95	8,65	95,54
<b>4</b>	0,28	2,56	98,09
<b>5</b>	0,13	1,22	99,31
<b>6</b>	0,04	0,37	99,69
<b>7</b>	0,02	0,17	99,86
<b>8</b>	0,01	0,08	99,94
<b>9</b>	0,01	0,06	100,00
<b>10</b>	0,00	0,00	100,00
<b>11</b>	0,00	0,00	100,00

En los gráficos de dispersión y de pesos de componentes principales (Figuras 14, 15) se representa las variables con los dos primeros componentes.

En el gráfico de componentes principales se observa que en el primer componente las variables que tienen mayor peso con signo positivo son: diferencia de reflectancia entre 740- 670 nm y  $h^*$ , y con signo negativo el peso, diámetro longitudinal y los sólidos solubles totales. También tienen importancia, aunque, con un peso menor la actividad antioxidante, luminosidad con signo positivo y el diámetro axial y  $C^*$  con signo negativo. En el segundo componente las variables con mayor peso son:  $b^*$ , luminosidad, actividad antioxidante, diámetro axial y  $C^*$ .

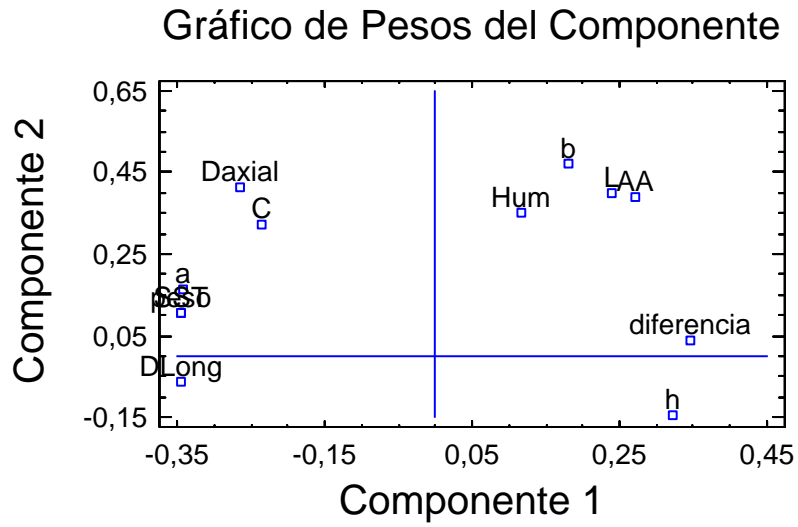


Figura 14. Gráfico de pesos del componente

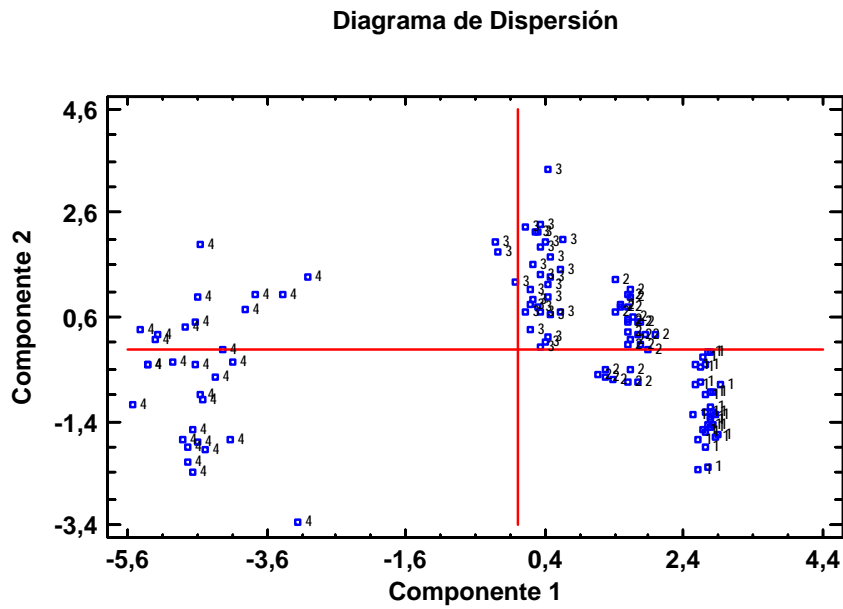


Figura 15. Diagrama de dispersión de los parámetros medidos.

En el gráfico de diagrama de dispersión están representados todos los parámetros medidos para la clasificación de color que en este caso son 118 casos y se observa la agrupación de las observaciones en las cuatro clases de ovos previamente establecidas.

### 5.4 ANALISIS DISCRIMINANTE

El procedimiento de análisis discriminante está diseñado para ayudar a distinguir entre dos o más grupos de datos basados en un conjunto de x variables cuantitativas.

Se realizó un análisis discriminante con las variables de color. El modelo que contiene los parámetros  $a^*$  y la diferencia de reflectancia entre 740-670 nm es el modelo que permite clasificar correctamente el mayor número de observaciones (99,15 %).

En la Figura 16 se muestra la representación gráfica de las funciones discriminantes. Se observa que los frutos de la clase 4 son los que obtienen un valor de  $a^*$  negativo más alto y los de la clase 1, 2 y 3 los que tienen un valor de la diferencia de reflectancia entre 740 y 670 nm más alto en sentido positivo.

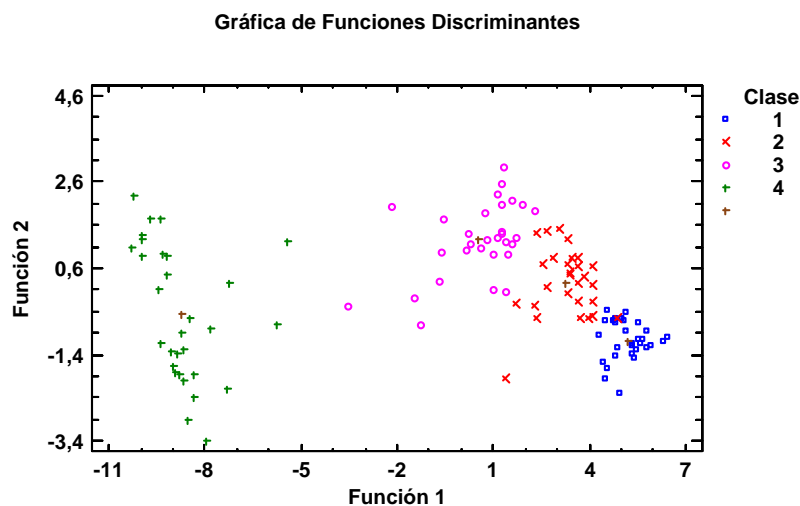


Figura 16. Gráfica de Funciones Discriminantes

Y una vez aplicada las funciones, se obtiene la clasificación de las muestras a cada clase correspondiente (Tabla 15).

Tabla 15. Tabla de clasificación

Actual Clase	Tamaño de Grupo	Predicho Clase			
		1	2	3	4
1	30	30	0	0	0
		100 %			
2	28	1	27	0	0
		3,57%	96,43 %		
3	30	0	0	30	0
				100 %	0
4	30	0	0	0	30
					100 %

Como se puede observar la clasificación de los ovos se corresponde bien en un 100 % con respecto a la clase 1, 3 y 4 y en la clase 2 un solo fruto no está bien clasificado.

Se crean otras funciones de clasificación para cada clase (Tabla 16).

Tabla 166. Coeficientes de la Función de clasificación para Clase

	1	2	3	4
<b>a*</b>	1,18	1,90	2,64	3,54
<b>difer 740-670</b>	3,75	3,64	3,30	1,17
<b>Constante</b>	-96,01	-90,40	-81,57	-52,56

En donde las funciones son:

$$F (\text{clase 1}) = -96,01 + 3,75 * \text{diferencia } 740\_670 \text{ nm} + 1,18 * a^*$$

$$F (\text{clase 2}) = -90,40 + 3,64 * \text{diferencia } 740\_670 \text{ nm} + 1,90 * a^*$$

$$F (\text{clase 3}) = -81,57 + 3,30 * \text{diferencia } 740\_670 \text{ nm} + 2,64 * a^*$$

$$F (\text{clase 4}) = -52,56 + 1,17 * \text{diferencia } 740\_670 \text{ nm} + 3,54 * a^*$$

Estas funciones se pueden utilizar para clasificar los frutos y nos indican que para realizar una buena clasificación es suficiente medir los parámetros de color a\* y la

diferencia de reflectancia entre 740-670 nm.

El modelo se validó con 3 nuevas observaciones de cada clase de ovos. Los resultados se muestran en la Tabla 17. Todos los ovos fueron correctamente clasificados en el grupo al que corresponden.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 17. Validación del método

CLASE	L*	a*	b*	C*	h*	diferencia 740-670 nm	Función C1	Función C2	Función C3	Función C4	Clase clasificación
4	42,94	31,55	33,85	46,38	46,95	6,66	-33,809	-6,307	23,677	<b>66,871</b>	4
4	43,42	30,78	32,69	44,45	46,55	8,43	-28,070	-1,327	27,494	<b>66,227</b>	4
4	43,86	31,76	33,80	46,51	46,69	9,90	-21,403	5,878	34,940	<b>71,436</b>	4
3	48,97	20,43	38,99	44,15	62,22	31,06	44,681	61,359	<b>74,952</b>	56,202	3
3	47,10	16,31	34,21	38,01	63,53	36,73	61,107	74,172	<b>82,823</b>	48,310	3
3	49,90	15,20	36,37	40,74	68,02	35,26	54,277	66,707	<b>75,021</b>	42,626	3
2	50,02	3,91	38,59	38,25	80,41	38,58	53,431	<b>57,367</b>	<b>56,210</b>	6,602	2
2	52,58	5,70	41,07	41,29	79,98	39,36	58,478	<b>63,609</b>	<b>63,517</b>	13,854	2
2	52,36	4,97	40,42	40,48	87,00	38,18	53,180	<b>57,923</b>	<b>57,685</b>	9,882	2
1	48,209	-3,003	31,554	31,767	95,614	50,76	<b>91,002</b>	88,556	78,208	-3,543	1
1	47,558	-2,103	32,552	32,486	92,763	50,08	<b>89,503</b>	87,783	78,330	-1,160	1
1	47,182	-2,155	31,150	31,095	93,689	49,82	<b>88,485</b>	86,757	77,350	-1,645	1

## 6. CONCLUSIONES

El peso, los diámetros longitudinal y axial, los sólidos solubles totales y el pH aumentan conforme el fruto madura, al contrario que la acidez valorable, que disminuye con la maduración del fruto. Para todos los parámetros determinados, a excepción de la humedad, existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las clases establecidas. La mayor variabilidad se presenta para la acidez valorable (DER 35,09 %), el peso (DER 17,86 %) y los sólidos solubles totales (DER 14,09 %).

La disminución de la diferencia de reflectancia entre las longitudes de onda de 670 y 740 nm puede asociarse con la desaparición de la clorofila a medida que el fruto madura, en virtud de las características espectrofotométricas de este pigmento (que presenta un máximo de absorción próximo a 670 nm).

Esta disminución de la diferencia entre estas longitudes de onda es la que provoca el aumento de la coordenada  $a^*$  a medida que el fruto madura, haciéndole pasar progresivamente de un color verde a rojo-anaranjado. Por lo tanto, el aumento de la coordenada  $a^*$  sería también debido a la disminución de la clorofila.

La correlación de los parámetros de color con el peso, el diámetro longitudinal, el diámetro axial, los sólidos solubles totales, el pH, la acidez valorable y la actividad antioxidante es significativa ( $p < 0,05$ ) en todos los casos. Las correlaciones son directas con la acidez valorable y la actividad antioxidante, e inversas con el resto de parámetros. Las mayores correlaciones ( $> 0,85$ ) se presentan con la componente de color  $a^*$  y con la diferencia de reflectancia entre las longitudes de onda 740 y 670 nm.

Los modelos de regresión obtenidos permiten clasificar correctamente los ovos en cuatro clases según su estado de madurez, utilizando solamente los valores de la componente  $a^*$  del color y la diferencia de reflectancia entre las longitudes de onda de 670 y 740 nm.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Acevedo Pons, I. C., & García, O. (2012, 12). Elaboración y evaluación de ciruela (*spondias purpurea* L.) en almíbar como rellenos en queso tipo mozzarella de búfala (*bubalus bubalis*). *UDO Agrícola*, 3, 720-729.

Ahora es época de comer el hobo y la ciruela. (2010, 11 de diciembre) *El Comercio*.

Mensaje dirigido a

<http://www.elcomercio.com/actualidad/negocios/ahora-epoca-comer-hobo-y.html>

Alothman, M., Rajeev Bhat, & Karim, A. A. (2009). Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*, 115(3), 785-788.  
doi:10.1016/j.foodchem.2008.

Andrades, M. S., & Gonzalez, M. L. (1995). Influencia climática en la maduración de la uva. *Zubía Monográfico*, 7, 79-102.

Aranceta, J., & Perez, C. (2006). MASSON , S.A. *Frutas verduras y salud*. Travessera de Gracia, 17-21 - Barcelona - España

Artigas, J. M.,ed.lit., Capilla, P.,ed.lit., & Pujol, J. (2002). In Universidad de Valencia (Ed.), *Tecnología del color*. [Valencia] : (sp): Universitat de València.

Berti, A. (2013). *Spondia purpurea*. Mensaje dirigido a

from <https://www.flickr.com/photos/ameliaberti/8568393615>

Beserra Almeida, M. M., Machado de Sousa, P. H., Campos Arriaga, A. M., Matias do Prado, G., Carvalho Magalhaes, C. E. d., Arraes Maia, G., & Gomes de Lemos, T. L. (2011). Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Research International*, 44(7), 2155-2159.

- Bezerra, E., Gomes, F., Ferreira, A., & Freire, I. (2011). AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE CIRIGUELA (*Spondias purpurea* L) EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO. [Evaluación de la calidad de ciriguela (*S. purpurea* L.) en diferentes estado de maduración] *Revista Verde De Agroecología y Desenvolvimento Sustentable De Agricultura Alternativa*, 6(2), 27 - 40.
- Bobo, G., García, G., Arroqui, C., Vírseda, P., Marín, M. R., & Navarro, M. (2014). Intralaboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional. Spectrophotometric methods. *Wileyonlinelibrary.Com*, doi:10.1002/jsfa.6706
- Campbell, R. (2007). *Biología*. (7ª ed). Madrid : (sp): Médica panamericana.
- Capilla, P.,ed.lit., Artigas, J. M.,ed.lit., & Pujol, J. (2002). *Fundamentos de colorimetría*. [Valencia] : (sp): Universitat de València,.
- Chamorro, M., & Herrera, M. (2012). *Obtención de vinagra a partir de ovo S. purpurea* L. Universidad técnica del Norte
- Contessa, C., Mellano, M. G., Beccaro, G. L., Giusiano, A., & Botta, R. (2013). Total antioxidant capacity and total phenolic and anthocyanin contents in fruit species grown in northwest italy. *Scientia Horticulturae*,160, 351-357.
- Coultate, T. (2007). In Fernández-Salguero J. (. C.,trad. (Ed.), *Manual de química y bioquímica de los alimentos* (3ª ed. ed.). Zaragoza : (sp): Acribia,.
- Douglas, B., & MscDougall. (2002). *Colour in food* CRC Press. USA : Woodhead Publishing Limited.
- Espectro de absorción de pigmentos (2011, 2 de agosto). Mensaje dirigido a [http://www.acuariodearrecife.com/imagenes/originales/absorcion\\_espectro\\_luminoso.jpg](http://www.acuariodearrecife.com/imagenes/originales/absorcion_espectro_luminoso.jpg)

Engels, C., Graeter, D., Esquivel, P., Jimenez, V. M., Ganzle, M. G., & Schieber, A. (2012). Characterization of phenolic compounds in jocote (*Spondias purpurea* L.) peels by ultra high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Food Research International*, 46(2), 557-562.

En Ambuquí piensan en microempresas. (15 feb. 2010) *La Hora*. Mensaje dirigido a <https://www.google.es/#q=en+ambuqui+piensan+en+microempresas>

Espacio del color CIELAB. (2014). Mensaje dirigido a from <http://www.twilight.com.mx/oe/color/tablacolor.jpg>

Fairuz, A. O., Hanafi, A., & Zubir, M. (2012). Visible spectral linearisation, gradient shift and normalisation in quantifying carambola acidity *Food Biophysics*, 7, 289-295. doi:10.1007/s11483-012-9267-y

Festy, D. (2007). *Antioxidantes. guía practica* [ANTI OXYDANTS. GUIDE PRACTIQUE]. BARCELONA: ROBINBOOK.

Guerrero, R., Manzanilla, M., Hernández, C., Chacín, J., & Clamens, C. (2011). Caracterización fisicoquímica de frutos de ciruelo de huesito (*Spondias purpurea* L.) en el municipio de mara. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, 28(1), 670-676.

Guzman, J. R. (2008). *Planificación integral del manejo de agua y suelo en Ambuquí con la aplicación de sistemas de información geográfica*

Karadag, A., Ozcelik, B., & Saner, S. (2009). Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Analytical Methods*, 2(1), 41-60. doi:10.1007/s12161-008-9067-7 ER

Kozioł, M., & Macía, M. J. (1998). Chemical composition, nutritional evaluation, and economic prospects of *Spondias purpurea* (anacardiaceae). *Economic Botany*, 52(4), 373-380.

Larrea, J. (2012). Obtención de extractos polifenólicos a partir de uva para uso alimentario. *Trabajo Fin Máster*,

- Larrea, J. (2012). *Obtención de extractos polifenólicos de a partir de uva para uso alimentario*
- Li Fu, Bo-Tao Xu, Xiang-Rong Xu, Ren-You Gan, Yuan Zhang, En-Qin Xia, & Hua-Bin Li. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry*, 129(2), 345-350.
- López, A., Saucedo, C., Arévalo, M., & Muratalla, A. (2004). EFFECT OF THE MATURITY STAGE ON POSTHARVEST QUALITY AND SHELF LIFE IN MEXICAN PLUM (*spondias purpurea* L.) FRUITS. *Revista Fitotécnica Mexicana*, 27(2), 133-139.
- Macia, M. J., & Barfod, A. S. (2000). *Spondias purpurea* (anacardiaceae) in ecuador. *Economic Botany*, 54, 4, 449-458. doi:10.1007/BF02866544
- Nielsen, S. S., ed. lit. (2008). In Nielsen S. S., ed. lit., Ferrando Navarro A. C., trad. (Eds.), *Análisis de los alimentos*. Zaragoza : (sp): Acribia,.
- Omena, C. M. B., Valentim, I. B., Guedes, G. d. S., Rabelo, L. A., Mano, C. M., Bechara, E. J. H., . . . Goulart, M. O. F. (2012). Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities of ethanol extracts of peel, pulp and seeds of exotic brazilian fruits. antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities in fruits. *Food Research International*, 49(1), 334-344.
- El ovo la delicia de Ambuquí. (15 ener. 2013). Mensaje dirigido a from <http://ovoladeliciadeambuqui.blogspot.com.es/p/quienes-somos.html>
- Pérez López, A., Saucedo, C., Arévalo, L., & Muratalla, A. (2004). Efecto del grado de madurez en la calidad y vida postcosecha de ciruela mexicana (*spondias purpurea* L). *Revista Fitotécnica Mexicana*, 27(2), 133-139.
- Pokorny, J., Yanishliev, N., & Gordon, M. (2004). In Pokorny J. (., ed. lit., Yanishlieva N., ed. lit., Gordon M. (., ed. lit. and Aramayona Alonso J. J., trad. (Eds.), *Antioxidantes de los alimentos : aplicaciones prácticas*. Zaragoza : (sp): Acribia,.

- Prior, R. L., Xianli Wu, & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290-4302. doi:10.1021/jf0502698 ER
- Quintanar, M., & Calderon., J. (2009). La capacidad antioxidante total. bases y aplicaciones. *Revista De Educación Bioquímica*, 8(33), 89-101.
- Radhi Addai, Z., Aminah Abdullah, Abd-Mutalib, S., Hamid Musa, K., & Douqan, E. M. A. (2013). Antioxidant activity and physicochemical properties of mature papaya fruit ( carica papaya L. cv. eksotika). *Advance Journal of Food Science & Technology*, 5(7), 859-865.
- Rivero-Perez, M. D., Muniz, P., & Gonzalez-Sanjose, M. L. (2007). Antioxidant profile of red wines evaluated by total antioxidant capacity, scavenger activity, and biomarkers of oxidative stress methodologies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(14), 5476-5483. doi:10.1021/jf070306q ER
- Ruenes, M. R., Casas, A., Jiménez, J. J., & Caballero, J. (2010). Etnobotánica de *spondias purpurea* L. (anacardiaceae) en la península de yucatán. *Interciencia*, 35, 247-258.
- Sahin, S., & Gulum, S. (2006). *Propiedades físicas de los alimentos* ACRIBIA.
- Silva, Q. J. d., Moreira, A. C. C. G., Melo, E. d. A., & Lima, V. L. A. G. d. (2012). Phenolic compounds and antioxidant activity of red mombin genotypes (*Spondia purpurea* L.). *Alimentos e Nutricao*, 23(1), 73-80.
- El sistema de ordenación del color munsell. (2014). Mensaje dirigido a from [http://redgeomatca.rediris.es/cart02/arb0lB/img/5-9-1\\_63-n.gif](http://redgeomatca.rediris.es/cart02/arb0lB/img/5-9-1_63-n.gif)
- Tejacal, I., Astudillo, Y., Núñez, C., Valdez, L., Bautista, S., García, E., . . . Rivera, F. (2012, 5). Caracterización de frutos de ciruela mexicana (*spondias purpurea* L.) del sur de México. *Fitotec. Mex.*, 35, 21-26.

- Torres, R., Montes, E. J., Perez, O. A., & Andrade, R. D. (2013). Relation of color and maturity stage with physicochemical properties of tropical fruits. *Informacion Tecnologica*, 24(3), 51-56.
- UNE 34-211-81. Determinación de la acidez valorable. Productos derivados de frutas y verduras.
- UNE 34-212- 81. Determinación del pH. Productos derivados de frutas y verduras.
- Vargas, G., Hernández, R., & Moguel, E. (2011, 23). Caracterización morfológica de ciruela (*spondias purpurea* L.) en tres municipios del estado de tabasco, méxico. *Bioagro*, 2, 141-149.
- Vasco, C., Ruales, J., & Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from ecuador. *Food Chemistry*, 111(4), 816-823. doi:10.1016/j.foodchem.2008.04.054 ER
- Youngson, R. (1994). *Antioxidantes y radicales libres*. MADRID: EDAF S.A.
- Zoecklein, B. W., Fugelsan, K., Gump, B., & Nury, F. (2000). In Zoecklein B. W. (Ed.), *Análisis y producción de vino* (E. Latorre Macarrón trad. Trans.). Zaragoza : (sp): Acribia,.