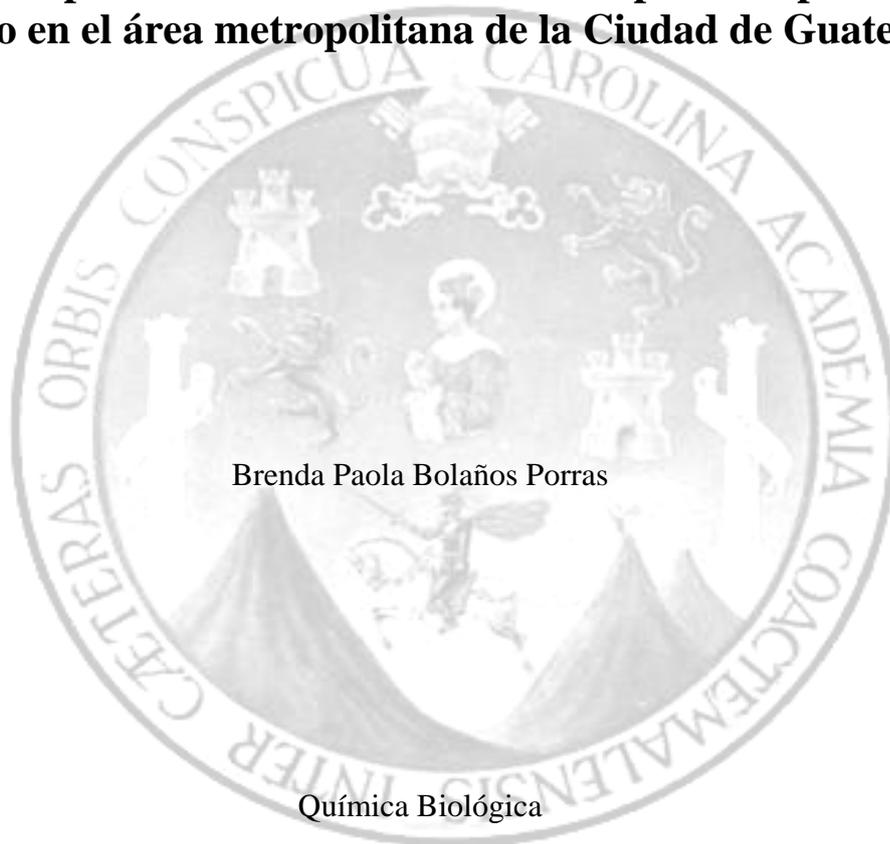


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

**Determinación de las propiedades antioxidantes de los jugos
de fruta producidos industrialmente disponibles para su
consumo en el área metropolitana de la Ciudad de Guatemala**



Brenda Paola Bolaños Porras

Química Biológica

Guatemala, noviembre de 2003

INDICE

	Página
I. Resumen	3
II. Introducción	3
III. Antecedentes	4
A. Radicales Libres	4
1. Generalidades	4
2. Relación con enfermedades crónico degenerativas	8
B. Antioxidantes	11
1. Generalidades	11
2. Antioxidantes nutrientes	12
3. Antioxidantes no nutrientes	15
C. Alimentos que contienen antioxidantes	16
D. Jugos de fruta y su importancia como fuente de antioxidantes	18
1. Clasificación de bebidas de frutas	18
2. Procesos de elaboración	19
E. Métodos para la determinación de propiedades Antioxidantes	22
1. Determinación de la actividad antioxidante total	21
2. Determinación de fenoles totales por el método de Folin	24
3. Determinación de vitamina C por cromatografía de alta resolución	25
IV. Justificación	26
V. Objetivos	27
VI. Materiales y Métodos	28
A. Universo y muestra	28
B. Recursos	29
C. Procedimientos	31
D. Diseño de la investigación	36
VII. Resultados	41
VIII. Discusión de Resultados	46
IX. Conclusiones	50
X. Recomendaciones	51
XI. Referencias	52
XII. Anexos	56

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Determinación de las propiedades antioxidantes de los jugos de fruta producidos industrialmente disponibles para su consumo en el área metropolitana de la Ciudad de Guatemala

Informe Final

Presentado por

Brenda Paola Bolaños Porras

Estudiante de la Carrera de

Química Biológica

Guatemala, noviembre de 2003

ACTO QUE DEDICO

A Dios sobre todas las cosas por darme la sabiduría para culminar ésta meta

A mis padres Mario y Norma por haberme brindado todo su amor y apoyo

A mis hermanos Mario, Any, Kenneth y Ester

A mis sobrinos Andrés y Andrea María

A mi cuñada Lucía Andrea

A mis Abuelos Martita, Delia y Paco

A Renato por su amor

A mis tíos en especial a Iván, Lucky, Misha, Lisi, Geovany, Fernando y Luis

A mis amigos Paola, Ingrid, Analucía y Rolando

AGRADECIMIENTOS

A Dios

A mis padres

A mi país

A la Universidad de San Carlos de Guatemala

Al Departamento de Bioquímica

A mis asesores Doctor Rubén Velásquez y Licenciada Julieta de Ariza

A Licda. Kenia Caballeros

A mis compañeros de promoción

I. RESUMEN

El presente trabajo se llevó a cabo con el propósito de determinar las propiedades antioxidantes de los jugos de frutas que se producen industrialmente para su consumo en el área metropolitana de la ciudad de Guatemala, para ello se obtuvieron muestras de seis diferentes lugares, representativos de tres niveles socioeconómicos de acuerdo a la capacidad de consumo aparente.

Se determinó las propiedades antioxidantes mediante la determinación de tres parámetros: capacidad antioxidante total, fenoles totales y vitamina C. Para la determinación de la capacidad antioxidante total se utilizó el método de difenilpicrilhidrazilo (DPPH) el cual es un método espectrofotométrico. Para la determinación de fenoles totales se utilizó el método de Folin Ciocalteu en el cual mide la intensidad del color producido cuando este reactivo reacciona con compuestos fenólicos. En el caso de la vitamina C se determinó por medio de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), la cual es una técnica de separación de dos fases por medio de una sólida estacionaria y una líquida móvil.

En el estudio se incluyeron 28 jugos de fruta producidos a partir de concentrados o frutas (jugos naturales), empacados industrialmente en envases sólidos, los cuales fueron colectados aleatoriamente de seis lugares de muestreo, durante los meses de septiembre y octubre del 2002.

Dentro de las muestras analizadas se incluyeron jugos de distintos sabores: 14 de naranja, 4 de uva, 4 de manzana, 4 de toronja y 2 de piña. Todos los jugos estudiados presentaron actividad antioxidante, las que variaron en un amplio rango. El jugo que mayor actividad antioxidante presentó fue el de naranja natural con un IC_{50} de 12 μ l (volumen de jugo necesario para disminuir el 50% de DPPH), un contenido de fenoles totales de 1128 μ g de Eq de Ac. gálico / ml y 922 mg/L de vitamina C. El jugo que menor actividad antioxidante tuvo fue el jugo de manzana natural ya que se estimó un IC_{50} >de 2,000 μ l, 106 μ g Eq de Ac. gálico / ml y 9 mg/L de vitamina C. Los resultados se presentan agrupando los datos de acuerdo a los cinco sabores estudiados y de acuerdo a la presencia o ausencia de aditivos.

Estos resultados demuestran que el consumo de jugos de fruta producidos industrialmente, especialmente el jugo de naranja, representa una alternativa para la ingesta de sustancias antioxidantes en la dieta de la población, presentando la ventaja de estar disponibles permanentemente, mientras que algunas frutas sólo están disponibles en ciertas épocas del año.

II. INTRODUCCIÓN

El cuerpo humano genera radicales libres, los cuales son moléculas que contienen uno o más electrones no apareados, por lo que se consideran moléculas muy reactivas. Los radicales libres se forman por una serie de reacciones, las cuales pueden ser inducidas por estrés, contaminación, mala alimentación, tabaco, fármacos y drogas, entre otros (1).

Los antioxidantes neutralizan y previenen la oxidación de los radicales libres que se producen en la mayor parte de las células corporales como subproducto del metabolismo, creando un equilibrio para evitar que los mismos causen daño y destrucción celular (2). Los antioxidantes naturales endógenos son aquellos que se producen en el organismo y llevan a cabo un sin fin de reacciones bioquímicas. También se pueden obtener antioxidantes exógenos en la dieta. El consumo constante de sustancias antioxidantes ha sido relacionado con la disminución del riesgo a sufrir enfermedades degenerativas (3-4).

Entre los alimentos que poseen mayor cantidad de antioxidantes se encuentran las frutas y hortalizas. Actualmente existe una variedad de bebidas derivadas de estos alimentos como: jugos naturales, jugos procesados y néctares, entre otros; estos productos han llegado a ser una alternativa al consumo de frutas y vegetales frescos, debido a que estos últimos dependen de la época para su cosecha, por lo que no se encuentran disponibles con regularidad en los diferentes meses del año; o por la sencilla razón que se consumen mayormente por su sabor y su presentación.

Debido a todo lo anterior nació el interés de determinar cuánta actividad antioxidante proporcionan los jugos de frutas producidos industrialmente y que se encuentran disponibles para su consumo en el área metropolitana de la ciudad capital, cuantificando la actividad antioxidante total por el método de DPPH, la cantidad de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu y la cantidad de vitamina C por HPLC.

III. ANTECEDENTES

A. RADICALES LIBRES

1. Generalidades

Son moléculas inestables y altamente reactivas que contienen uno o más electrones desapareados en sus orbitales externos, lo que los hace altamente energéticos y reactivos (2)

Los radicales libres pueden originarse en el exterior del cuerpo aunque también se forman como consecuencia del metabolismo natural del organismo humano (2). Ellos pueden ganar o entregar electrones con mayor facilidad y velocidad que los sistemas de óxido-reducción normales de los tejidos biológicos.

Los radicales que son generados por el cuerpo pueden ser:

- Hidroxilo OH^\cdot
- Superóxido O_2^\cdot
- Óxido nitroso NO^\cdot

Otros radicales que han sido identificables incluyen:

- Átomo de hidrógeno H^\cdot
- Triclorometilo CCl_3^\cdot
- Óxidos de nitrógeno NO^\cdot , NO_2^\cdot

Los radicales libres desestabilizan a otras moléculas hasta que se oxidan y regresan a su estado más estable, pueden iniciar reacciones en cadena que provocan daño a macromoléculas y células (2). En el cuerpo humano la oxidación es un proceso metabólico que provee energía para el funcionamiento vital de las células. Este metabolismo normal conlleva a la desafortunada producción de radicales libres derivados del oxígeno (5).

Las especies reactivas de oxígeno (SOR) incluyen no solo radicales cuyo electrón desapareado está centrado en el oxígeno sino también derivados de oxígeno no radicales como peróxido de hidrógeno, oxígenos simples y ácido hipocloroso. Estas especies han sido asociadas a varios tipos de daño celular y enfermedades degenerativas (6).

La molécula de oxígeno puede ser calificada de birradical y mediante un impulso energético se originan dos formas denominadas oxígeno singulete, aún más reactivas que el propio oxígeno. Además, cuando un electrón reduce la molécula de oxígeno se produce el ión radical superóxido (O_2^-). Esta especie química es muy reactiva y reacciona consigo mismo para producir peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y oxígeno molecular mediante una reacción de dismutación (ver tabla No.1). La forma protonada del radical superóxido es el radical perhidroxilo (HO_2^-). El peróxido de hidrógeno, aunque no es un radical libre, es peligroso para las células porque es un potente oxidante que atraviesa fácilmente las membranas biológicas y porque a partir de él, se puede originar el radical hidroxilo ($-HO$) (6).

Tabla No. 1 Principales reacciones en las que están implicadas especies reactivas

METABOLISMO DEL OXIGENO
$O_2 + 4e^- \rightleftharpoons H_2O + H_2O$
$O_2 + 3e^- \rightleftharpoons OH + -OH$ (hidroxilo)
$O_2 + 2e^- \rightleftharpoons H_2O_2$ (peróxido H)
$O_2 + 1e^- \rightleftharpoons O_2^-$ (superóxido)
donde e^- = electrón (6)

Las SOR se están produciendo continuamente en los sistemas biológicos. Muchos de ellos son productos intermediarios en diferentes reacciones enzimáticas, muy beneficiosas para el organismo, como la NADPH oxidasa y la mieloperoxidasa que están implicadas en la destrucción fagocítica de bacterias mediante la producción de O_2^- , $HO\cdot$ y oxígeno singulete. Sin embargo, de manera general, cuando hay una hiperproducción de estos radicales libres, o bien cuando los sistemas de defensa antioxidante están deteriorados, las SOR provocan graves daños celulares (6).

Los principales sistemas biológicos capaces de producir SOR son: la autooxidación de pequeñas moléculas tales como iones divalentes, tioles, quinonas, catecolaminas y flavinas, la oxidación de la hemoglobina y de la mioglobina, la actividad de varias enzimas, los peroxisomas, el transporte electrónico mitocondrial y el transporte electrónico microsomal. Entre las fuentes exógenas de SOR se encuentran diversos pesticidas, el humo del tabaco, antimicrobianos, fármacos anticancerígenos y otros medicamentos (6).

Los compuestos así formados pueden interferir las reacciones de macromoléculas vitales (ADN, fosfolípidos, proteínas) entregando o captando electrones, con lo que dañan los tejidos. A este proceso se lo ha denominado “estrés oxidativo” (7).

La peroxidación lipídica o lipoperoxidación es una reacción autocatalítica donde las especies reactivas del oxígeno o radicales libres sustraen átomos de hidrógeno a las moléculas de ácidos grasos poliinsaturados (8). La reacción termina cuando dos moléculas de peróxidos colisionan entre si o cuando reaccionan con algún antioxidante disponible, como se muestra en la siguiente reacción:



donde: $\begin{array}{c} | \\ -\text{C}-\text{H} \\ | \end{array}$ Acido graso poliinsaturado y $\begin{array}{c} | \\ -\text{C}- \\ | \end{array}$ radical de ácido graso.

La fase siguiente, de propagación, comprende una etapa en la que el R[•] se combina con el oxígeno formando un lipoperóxido (ROO[•])



Este peróxido puede retirar un nuevo hidrógeno de otro carbono molecular. De esta manera, persiste el proceso autocatalítico que convierte el carbono del ácido graso de los fosfolípidos de membrana en hidroperóxidos.



La lipoperoxidación sigue propagándose de esta manera y llega a su termino cuando dos ROOH reaccionan entre sí dando un tetróxido o cuando son neutralizados por los antioxidantes (8).

Los lípidos peroxidados son compuestos más polares y difícilmente estables en el interior hidrofóbico de la membrana. Por ello, la peroxidación de los lípidos disminuye la fluidez de la membrana, aumenta la permeabilidad inespecífica a los iones e inactiva las enzimas ligadas a la membrana. Como resultado final de la pérdida de la estructura en bicapa de la membrana y del aumento de la permeabilidad, se puede producir la lisis de la célula (9).

El daño al ADN causado por los radicales libres podría provocar cáncer; el daño a las proteínas puede provocar cataratas, cáncer y otras alteraciones menos definidas; la peroxidación lipídica de las membranas endoteliales puede determinar inflamación y aterosclerosis (7).

Se han desarrollado exitosas reacciones de neutralización de las SOR, conjuntamente con los mecanismos de defensa natural y la acción de cofactores orgánicos naturales, los cuales son introducidos al organismo por medio de la dieta especialmente frutas y verduras 10).

2. Relación con Enfermedades Crónico Degenerativas

El término crónico degenerativas significa que estas enfermedades van avanzando progresivamente hasta que terminan con la vida de la persona sin que exista algún mecanismo para detenerlas. Las enfermedades crónico degenerativas más comunes son las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, diabetes, la artritis y el Alzheimer. En países desarrollados tres de ellas son la causa del 70% de todos los fallecimientos, en este orden: los infartos, el cáncer y la diabetes con sus complicaciones. Actualmente se considera que estas enfermedades están relacionadas con la nutrición y los estilos de vida (consumo de alcohol, tabaco, actividad física, contaminación etc.) (11). No hay datos similares para Guatemala, pero se puede inferir que la tendencia a padecer este tipo de enfermedades es muy similar.

La prevención es un factor muy importante para combatir estos padecimientos. Actualmente se han estudiado sustancias llamadas antioxidantes que previenen y mantienen la salud corporal. La función protectora de los antioxidantes ha sido descubierta recientemente y existen varias sustancias a las cuales se les atribuye este poder antioxidante. Las más comunes y estudiadas son las vitaminas A, C y E, los flavonoides y minerales como el cobre, el selenio y el zinc (11).

Los antioxidantes juegan un papel muy importante en enfermedades relacionadas con la edad. Datos epidemiológicos demuestran que el alto consumo de frutas y vegetales previene el padecimiento de enfermedades degenerativas como el cáncer, cataratas, Alzheimer, artritis reumatoide, arterosclerosis y diabetes, entre otras (4-5, 12).

i. Enfermedades Cardiovasculares

La oxidación de los lípidos presentes en las proteínas de baja densidad y de muy baja densidad (LDL y VLDL, por sus siglas en inglés respectivamente), producen aterosclerosis acelerada y una tendencia a padecer trombos en las arterias, con el resultado de infarto o embolia cerebral. La lesión del endotelio arterial es el punto de partida para la formación de la placa de ateroma, esta lesión es causada por los hidroperóxidos lipídicos derivados de la oxidación de los ácidos grasos insaturados por los radicales libres. Una vez producida la lesión, se produce la agregación de las plaquetas en la zona dañada. La vitamina E y la C inhiben la lesión provocada por los hidroperóxidos lipídicos y también podría inhibir la agregación plaquetaria (13).

ii. Cáncer

Los radicales libres pueden provocar en las células un proceso de crecimiento maligno. Las propias células tumorales producen radicales libres, pero además se ven afectadas por ellos en su ADN. Una hipótesis que describe el mecanismo de acción de los radicales libres en el apareamiento del cáncer plantea que el inicio del cáncer puede ser causado por el daño que ocasionan los radicales libres (oxígeno singulete) al material genético de las células (ADN y ARN). Por eso, algunos antioxidantes como la vitamina C, β -carotenos y vitamina E protegen contra la formación de ciertos tipos de tumores, evitando la degradación oxidativa del material genético (14).

En países industrializados el cáncer ocupa el segundo lugar de mortalidad de la población. Se ha estimado que el 35% de la incidencia de cáncer está relacionado con la dieta (14).

Un estudio realizado en relación con el papel de los antioxidantes en el tratamiento del cáncer, se reportó que las megadosis de estos nutrientes mejoran el bienestar y la calidad de vida de los pacientes cancerosos y pueden mejorar la sobrevivencia (15). Otro estudio demostró que el consumo de alimentos que contienen antioxidantes, entre ellos las guindas y las zarzamoras, mejoran la circulación y previenen el cáncer (16).

iii. Diabetes tipo 2:

También conocida como Diabetes mellitus no insulino dependiente (NIDDM, por sus siglas en inglés) es una enfermedad metabólica caracterizada por una ligera a severa descompensación en la homeóstasis de la glucosa. Los dos factores determinantes en el desarrollo para padecer NIDDM son la obesidad y la inactividad física. La hiperglicemia aumenta el estrés oxidativo, más allá de la capacidad protectora de las defensas antioxidantes por la autooxidación de la glucosa (17).

El cuerpo humano posee un mecanismo de defensa que en un individuo sano mantiene controlada la concentración de SOR. Por ello es necesario adecuar la dieta aumentando el consumo de antioxidantes exógenos y así compensar la disminución de los niveles antioxidantes en el plasma de los NIDDM. En el año 2001 investigadores demostraron que existen ciertos antioxidantes que benefician particularmente a los diabéticos entre ellos se encuentran la vitamina E (α -tocoferol) y el ácido lipóico, ya que la vitamina E es una vitamina liposoluble que actúa a nivel de las membranas celulares inhibiendo la peroxidación lipídica. (17).

B. ANTIOXIDANTES

1. Generalidades

Un antioxidante es una sustancia que retrasa o inhibe las reacciones oxidativas. Los antioxidantes pueden actuar en diferentes etapas de una secuencia oxidativa; así también pueden actuar en sitios específicos o puede actuar en diferentes lugares (3).

El sistema de defensa antioxidante del cuerpo humano consiste en antioxidantes endógenos y exógenos. Los antioxidantes endógenos son: enzima superóxido dismutasa (SOD), enzima glutatión peroxidasa (GPx), catalasas, glutatión reductasa y glutatión S transferasa y los exógenos son: vitaminas, provitaminas, flavonoides y minerales (14).

Estos trabajan conjuntamente a nivel molecular para proteger las membranas celulares, lipoproteínas y ADN del daño causado por los efectos de los radicales libres. Los antioxidantes exógenos incluyen nutrientes y no-nutrientes que entran al cuerpo por medio de la dieta (4).

Los antioxidantes nutrientes se pueden dividir en tres grandes grupos:

- Vitaminas y provitaminas, por ejemplo: vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E (α -tocoferol) y β -caroteno.
- Vitaminas que son coenzimas de enzimas regeneradoras de antioxidantes, por ejemplo: vitamina B₁, B₂, B₆, B₁₂ y niacina.
- Minerales que son componentes estructurales de enzimas, por ejemplo: cobre, zinc y selenio (4).

Dentro de los principales antioxidantes no-nutritivos provenientes de la dieta se pueden mencionar polifenoles e indoles (4).

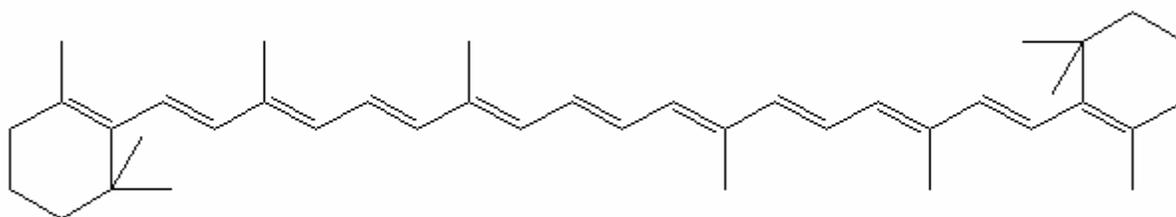
2. Antioxidantes nutrientes

Estudios realizados en el 2001, demuestran que la vitamina C puede reducir el daño oxidativo in vivo al consumirse de 60 a 75 mg en mujeres y 90 mg en hombres adultos (19). En el mismo artículo Hince, expresó: “ es obvio que una dieta vegetariana bien balanceada o una dieta mixta que contenga 1 kg de frutas, jugos y vegetales brinda suficiente vitamina C para mantener un estatus adecuado de esta vitamina, por lo que el consumo de alimentos ricos en vitamina C es mucho más sano que consumir suplementos de ella” (19).

ii. β -Caroteno

El β -caroteno es un precursor de la vitamina A (ver figura No.2) y actúa como un antioxidante capaz de proteger al cuerpo contra la oxidación normal en el organismo. La actividad anti-cancerosa del β -caroteno es mayormente debida a su función en la inmunidad celular, lo cual hace a las células más resistentes a la proliferación descontrolada y formación de tumores. Estudios demuestran el efecto positivo que tiene el β -caroteno en el sistema inmunológico (20).

Figura No. 2 Estructura química β -caroteno



El papel protector de β -caroteno está relacionado fundamentalmente con su capacidad para inhibir la proliferación celular. Existen diversos estudios epidemiológicos que confirman la relación entre la ingestión de este nutriente con una baja incidencia de cáncer (6).

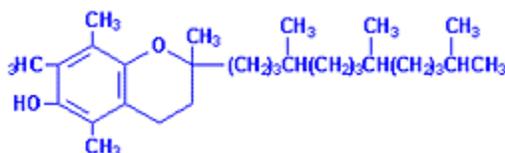
Los alimentos que contienen mayor cantidad de β -caroteno son los vegetales y frutas con pigmentación amarilla y verde. El contenido de β -caroteno puede variar dependiendo la época, el

almacenamiento y el grado de maduración (14). Un estudio efectuado en el año 2000, reveló que las personas vegetarianas mantienen niveles plasmáticos de β -caroteno más alto que las personas omnívoras (4).

iii. Vitamina E

Es una vitamina soluble en lípidos (liposoluble) (ver figura No.3). Es una de las primeras en la línea de defensa. Su principal función es proteger la destrucción de los lípidos al igual que otros componentes vulnerables de las células y sus membranas. Es especialmente efectiva en la prevención de la oxidación de las lipoproteínas de alta densidad (HDL, por sus siglas en inglés) (20).

Figura No. 3 Estructura química vitamina E



Los efectos antioxidantes de la vitamina E son también muy amplios. Se han realizado estudios que demuestran su papel protector en la oxidación de las LDL. Además, la vitamina E inhibe la agregación plaquetaria (6).

Entre los alimentos ricos en vitamina E se encuentran los aceites vegetales, semillas, nueces, granos y hierbas. Las frutas, carnes y pescado son alimentos que contienen menor cantidad de vitamina, es por ello que en la actualidad se utiliza el acetato α -tocoferol como suplemento (14).

iv. Minerales

Estudios demuestran que concentraciones bajas de zinc pueden desencadenar arterosclerosis. Existen evidencias de que el zinc puede actuar como un factor protector endógeno contra la arterosclerosis mediante la inhibición de la oxidación de las LDL y la inhibición del estrés oxidativo causado por la disfunción celular (21).

El selenio es un mineral que actúa como un antioxidante. Este antioxidante, en conjunto con la vitamina E, ayuda a prevenir la oxidación del colesterol HDL, proporcionando una protección adicional. Poblaciones consideradas como consumidoras de bajas cantidades de selenio en la dieta, presentan un riesgo alto de sufrir enfermedades cardíacas y cierto tipo de cáncer (20).

3. Antioxidantes no nutrientes

Los antioxidantes no nutrientes se ingieren por medio de la dieta, especialmente por consumo de vegetales y frutas. Entre ellos se encuentran los compuestos fenólicos o polifenoles, los cuales constituyen un amplio grupo de sustancias químicas. Estos compuestos son considerados metabolitos secundarios de las plantas (22).

i. Flavonoides

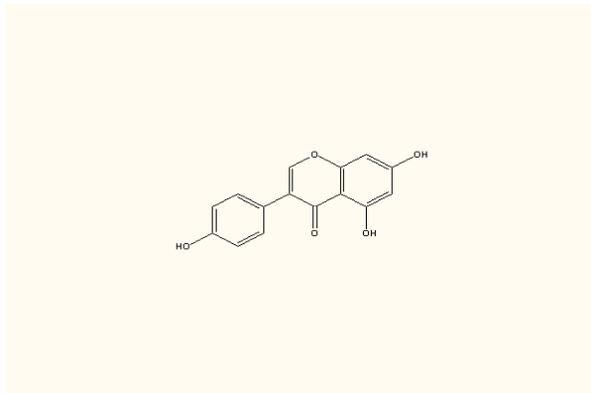
Químicamente, los compuestos fenólicos son sustancias químicas que poseen un anillo aromático, un anillo benceno, con uno o más grupos hidróxidos incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc.) (ver figura No.4) (22).

La acción antioxidante de los flavonoides depende principalmente de su capacidad de reducir radicales libres y quelar metales, impidiendo las reacciones en cadena originadas por los radicales libres. Los flavonoides pueden inhibir la peroxidación lipídica mediante el retraso de la depleción de antioxidantes liposolubles en el suero, también poseen efectos antimutagénicos (17, 23-24).

Los flavonoides, son metabolitos secundarios de las plantas por lo que se encuentran ampliamente distribuidos en una gran variedad de alimentos como frutas, vegetales, vino y té (17, 25). El jugo de naranja es el que provee mayor cantidad de flavonoides a la dieta aproximadamente de 400-750 mg/L dependiendo el proceso de elaboración y conservación (26).

Hay estudios que demuestran que la pigmentación de ciertos tipos de fruta y vegetales se debe a la presencia de flavonoides, lo que le confiere al mismo tiempo una mayor actividad antioxidante; a mayor pigmentación mayor cantidad de flavonoides (27).

Figura No.4 Estructura química de la Quercitina, como ejemplo de un flavonoide



Estudios realizados en el Mediterráneo revelan que la dieta es rica en especias, una de las cuales es el orégano (*Origanum vulgare*). El orégano contiene cinco compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes entre los que se encuentran ácido protocatecínico, ácido cafeíco y ácido rosmarínico (3).

C. ALIMENTOS QUE CONTIENEN ANTIOXIDANTES

Los alimentos que contienen antioxidantes son: frutas, jugos, vegetales, hierbas, leguminosas, soya, granos, nueces, semillas, aceites vegetales, cereales, vinos, carnes y pescado entre otras (4, 14, 16). En la tabla No. 2 se puede observar las fuentes de antioxidantes presentes en los nutrientes.

Tabla No. 2 Fuentes de antioxidantes y nutrientes

Vitamina C	Vitamina E	Beta –carotenos	Flavonoides	Selenio	Zinc
Frutas: Jugo de manzana, kiwi, mango, papaya, melón, frutas cítricas, sandía.	Aceites de oliva y canola	Frutas: Sandía, mango, papaya, melón, carambola y mandarina	Frutas: Naranja, madarina, toronja, limón, ciruela, manzana y melocotón	Mariscos	Mariscos
Vegetales: Espárragos, repollo, coliflor, pimientos, brócoli, papa, lechuga, tomates	Verduras	Verduras: Calabazas, jugo de tomate, espinacas y zanahorias	Verduras: Cebolla, tomate, brócoli, papas y el repollo	Carnes	Legumbres
	Granos		Legumbres	Granos	Granos
	Hígado		Cereales: Harina de arroz		
	Yemas de Huevo		Vinos		
	Nueces y semillas		Té		

Fuente: (14, 18, 20, 22)

D. JUGOS DE FRUTA Y SU IMPORTANCIA COMO FUENTE DE ANTIOXIDANTES

El jugo de fruta es el líquido obtenido mediante un proceso mecánico de extracción y tiene las características de la fruta de la que procede (28). Por jugo concentrado de fruta se entiende el producto del que se ha eliminado físicamente una porción de agua. En la industria, los jugos de fruta producidos son aquellos provenientes de naranja, manzana y uva.

Los flavonoides proveen pigmentos a los jugos de fruta los cuales son pigmentos hidrosolubles, los carotenoides y clorofila son pigmentos liposolubles que se convierten en hidrosolubles cuando se combinan con ciertas proteínas. Es por ello que estos antioxidantes se encuentran presentes en los jugos de fruta (29).

En la actualidad se ha incrementado el interés acerca de la función que cumplen los antioxidantes en la prevención de un gran número de enfermedades. En otros países se han desarrollado investigaciones para la determinación de la actividad antioxidante presente en los jugos industrializados, en Guatemala no existe ningún estudio que revele el contenido de antioxidantes en jugos de fruta.

Un estudio demostró en el año 2000, que algunos jugos de fruta, como los de granada, muestran una capacidad antioxidante tres veces mayor que la que muestra el vino tinto e infusiones de té (30). Otros estudios han reportado que los jugos de arándano y zarzamora contienen proantocianinas, las cuales son utilizadas para el tratamiento de infecciones urinarias (31).

1. Clasificación de bebidas de frutas

- i. Naturales: Son jugos frescos que han sido estabilizados por tratamientos físicos que garantizan su conservación.
- ii. Conservados: Jugos naturales a los que se ha incorporado algún conservante como benzoato de sodio o ácido benzoico, y ácido sórbico o sus sales de potasio o sodio.
- iii. Azucarados: Contienen edulcorante entre ellos sacarosa, glucosa o fructuosa.
- iv. Gasificados: Contienen gas carbónico.
- v. Néctares: Productos obtenidos por la mezcla de jugos naturales, jugos de fruta concentrados,

pulpa de la fruta o pulpa concentrada, agua, edulcorantes naturales y aditivos autorizados que no modifiquen la naturaleza del mismo (28).

2. Procesos de elaboración

Los jugos no procesados son todos aquellos que generalmente no se someten a ninguna concentración. Pueden elaborarse a pequeña escala, por ejemplo, para su consumo inmediato o envasarse sin ningún tratamiento térmico para ser consumido en el plazo de pocas horas. De algunos años para acá se ha industrializado este tipo de jugos, teniendo una menor vida de anaquel que los jugos procesados (28).

La elaboración de un jugo de fruta incluye:

i. Preparación de la fruta

Consiste en la limpieza de la fruta para eliminar los contaminantes. Pueden realizarse por métodos secos como tamizado, cepillado, aspiración, abrasión, separación magnética o bien por métodos húmedos como inmersión, aspersión, flotación, filtración o decantación. Después de la limpieza hay un proceso de selección para separar la fruta según categorías físicas (peso, tamaño, color y forma) (32).

ii. Extracción del jugo

Las frutas que contienen aceites amargos en sus cáscaras, como naranja y toronja, se les trata diferente, empleando un sistema donde el aceite de la cáscara sale sin mezclarse con el jugo de la fruta. En el caso de otras frutas que no contienen este tipo de aceites se exprimen enteras después de trituradas (32).

iii. Clarificación y estabilización

Después de la obtención del jugo la mayoría de veces, éste contiene suspendidas pequeñas cantidades de pulpa que hay que separar. Esto se puede realizar utilizando filtros finos o bien centrífugas de alta velocidad, que separan el jugo de la pulpa de acuerdo con sus diferencias de densidad. También se les puede adicionar preparaciones comerciales de enzimas que digieren las sustancias pécticas, dando lugar a la sedimentación de la pulpa fina, produciendo un jugo clarificado (32).

La estabilización elimina el aire atrapado que contienen algunos jugos, pulverizándolos en un desaireador de vacío. Esto minimiza la destrucción subsiguiente de la vitamina C y otros cambios causados por el oxígeno (32).

iv. Conservación

Existen varios métodos a los cuales son sometidos los jugos de frutas producidos industrialmente para mantener su calidad tanto microbiológico como nutricional. Los jugos de fruta se pueden conservar mediante procesos térmicos o no térmicos. Los procesos térmicos afectan la calidad del alimento, además de inactivar microorganismos. Por otra parte, los procesos no térmicos por ejemplo altas presiones, pulsos eléctricos e irradiación, se pueden utilizar en la inactivación de microorganismos responsables de los deterioros de los alimentos, sin que la calidad del mismo quede afectada (28).

La conservación del jugo se puede realizar por medio de diferentes procesos entre ellos campo de pulso eléctrico, pasteurización, ultra alta temperatura, congelación, almacenamiento en atmósferas de gases inertes, concentración o desecación (28).

- Campo de pulso eléctrico (CEP) : Es un proceso no térmico en el cual se inactivan los microorganismos sin ningún cambio adverso en el sabor, color y valor nutricional de los alimentos. Este método consiste en el uso de microondas y el calentamiento por corrientes eléctricas que al generar el calor en el interior de los alimentos, permiten un rápido calentamiento de productos sólidos o viscosos, reduciendo el tiempo de tratamiento. Las altas presiones, los pulsos eléctricos de alto voltaje, la

irradiación y los ultrasonidos son técnicas capaces de inactivar a los microorganismos sin aumentar la temperatura, por lo que serán utilizadas en el futuro por la industria alimentaria (33).

- **Pasteurización:** La pasteurización tiene como objetivo disminuir el crecimiento microbiano y neutralizar las enzimas naturales, mediante el sometimiento del jugo de fruta a una fuente de calor (agua ó vapor de agua). De esta forma se eliminan agentes microbiológicos y enzimáticos que puedan desarrollarse en el jugo alterándolo. Las temperaturas que se alcanzan son de 60-72°C, por lo que no se destruyen todos los microorganismos (32) .
- **Ultra alta temperatura (UHT):** Es un tipo de pasteurización en el cual se eleva los líquidos a temperaturas de 137°-140° C durante unos pocos segundos para eliminar la presencia de cualquier microorganismo. Este tipo de pasteurización es menos lesivo para el valor nutritivo y las características sensoriales de los jugos de fruta (33).

E. MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES ANTIOXIDANTES

Entre los métodos que existen para determinar la actividad antioxidante, se encuentra el que se basa en la habilidad para actuar como recolector de radicales, la cual se evalúa utilizando un reactivo capaz de reducirse al reaccionar con agentes reductores. También existen métodos que evalúan el contenido de grupos fenólicos en base de las propiedades antioxidantes que se les ha atribuido (34).

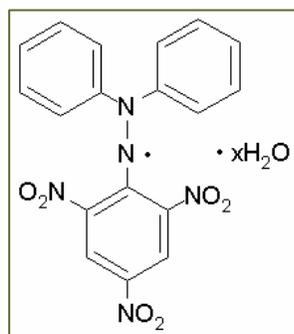
1. Determinación de la actividad antioxidante total

- i. Difenilpicrilhidrazilo (DPPH)

DPPH es un radical libre estable, disuelto en etanol tiene una coloración azul-violeta. En presencia de un antioxidante el DPPH es convertido a 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo con un color amarillo (ver figura No. 5) (3).

Los resultados de este método son expresados en IC_{50} , el cual se define como la concentración necesaria de muestra para reducir el 50% de la cantidad inicial de DPPH y se expresa como la relación molar de cada componente por radical. Los niveles bajos de IC_{50} indican alta eficacia en la donación de hidrógeno (35-36).

Figura No. 5 Estructura de 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo



Desde el punto de vista metodológico, el DPPH es un método fácil y exacto para la medición de actividad antioxidante en frutas y verduras por lo que es recomendado para medir la actividad antioxidante en este tipo de muestras (30). Este método presenta también la ventaja de ser una prueba no enzimática y es utilizado para proveer información básica en la reactividad de compuestos para el secuestro de radicales (36).

ii. 1,3-Dietil-2-ácido tiobarbitúrico (DEBTA)

Este método permite la evaluación de la actividad antioxidante por medio de un ensayo fluorométrico; se basa en la inhibición de la peroxidación lipídica, acompañado de la autooxidación del ácido linoléico. Para ello se utiliza el ácido linoléico como autooxidante con la muestra a evaluar, calentando a $80^{\circ}C$ por una hora, luego se lee la excitación de onda en un espectrofluorómetro a 515 nm y la emisión a 555 nm. Un control que no contiene ácido linoléico

representa el 100% de peroxidación lipídica. Un valor bajo de peroxidación lipídica indica una actividad antioxidante elevada (27).

iii. Capacidad de reducción del Fe (III) del plasma (FRAP)

Este método fue desarrollado para medir la capacidad reductora del hierro en plasma a bajo pH. Un color azul intenso se forma cuando el complejo se reduce a Fe^{+2} . La absorbancia es medida a 593 nm. El FRAP es un método que permite medir la capacidad antioxidante con un amplio rango de diluciones de jugos y es recomendado para medir la actividad antioxidante en frutas y verduras (30).

Un estudio realizado en el año 2000, menciona que entre las ventajas del método se encuentran la simplicidad y que permite utilizar un amplio rango de diluciones. Se menciona también que es un método fácil y exacto para la medición de actividad antioxidante en frutas y verduras (30).

iv. Método de Fenton

La enzima superóxido dismutasa (SOD) convierte el O_2^- en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) mediante la reacción de Fenton; éste último en presencia de Fe^{2+} produce radical hidroxilo (OH^\cdot), reacción que es activada por Fe^{2+} y Cu^+ . A continuación se expresa la reacción de Fenton descrita por Ebadi en 1996 y Mattson en 1998.



Según Burdon en 1995 y Mattson en 1998, el O_2^- puede interactuar también con el óxido nítrico (NO) para formar peroxinitrito (ONOO^-) (37-38).

El método de Fenton presenta la reacción con la mayor fuente bioquímica de radicales hidroxilo. Sin embargo como desventaja presenta el ser dependiente de la presencia de proteínas no enlazadas a hierro. Esta metodología ha sido utilizada en varias investigaciones en que se ha determinado los efectos anti y prooxidantes en varios extractos de té (37).

2. Determinación de fenoles totales por el método de Folin

Los fenoles, al igual que las proteínas, reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu para dar un complejo coloreado. El color que se forma por la reacción del cobre alcalino con la proteína y la reacción de fosfomolibdato por la tirosina y el triptófano presentes en la proteína (39). La intensidad del color depende del número de aminoácidos aromáticos presentes. El complejo en el caso de las proteínas es rojo o violeta y azul en el caso del amonio (40). El método de Folin es ampliamente utilizado para medir la cantidad de fenoles totales en extractos, jugos de frutas y otras bebidas (25,31).

3. Determinación de Vitamina C por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

La HPLC es una técnica de separación en dos fases, una sólida estacionaria y una líquida móvil. Con este método es posible realizar cuantificaciones simultáneas de diversas vitaminas siendo algunas de ellas carotenos, riboflavina, folatos, vitamina C, tiamina y piridoxina. Se ha comprobado que el método es altamente específico y no existen interferencias de otros compuestos, por lo que se utiliza para análisis de rutina (41).

Para la medición de la vitamina C se debe de utilizar una longitud de onda de 265 nm, se utiliza una fase móvil a base de amortiguador de fosfatos pH 3 (95%) y metanol (5%). Los resultados se obtienen por áreas las cuales son interpoladas con la ecuación de la línea recta para obtener la concentración en $\mu\text{g/ml}$. Entre las ventajas de este método se pueden mencionar que es un método reproducible y que el tiempo de análisis es relativamente corto, ofreciendo precisión y exactitud (41).

IV. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años se ha incrementado el interés por los beneficios que algunos alimentos ricos en antioxidantes pueden tener para la prevención de enfermedades crónico degenerativas. Las frutas y hortalizas son una buena fuente de antioxidantes.

Los jugos son productos derivados principalmente de frutas. Existen jugos de frutas naturales y jugos de fruta procesados, ambos se encuentran disponibles independientemente de la época del año. Su consumo no se ve restringido por su disponibilidad en el mercado. Una ventaja que ofrece este tipo de alimentos es que debido a su conservación y a los procesos a los que han sido sometidos, su vida de anaquel es más prolongada, por lo que se encuentran con mayor facilidad en el mercado.

En Guatemala no existe ningún reporte del contenido de antioxidantes en jugos de fruta, por lo que este trabajo permitió conocer dicha actividad en los jugos de fruta producidos industrialmente y de esa manera valorizar el consumo de los jugos de fruta no solo por su contenido vitamínico sino también por los niveles de antioxidantes presentes en los mismos, que pueden prevenir enfermedades crónico degenerativas.

Estas consideraciones demuestran el valor e importancia de la determinación de actividad antioxidante en jugos de frutas que se distribuyen en el área metropolitana de la ciudad de Guatemala, pues a través del estudio se obtuvieron datos que permitirán ampliar la información referente al tema. Por otro lado se confirmó la importancia de una dieta que incluya jugos de frutas, lo que permite dar las pautas para la promoción de un mayor consumo con el conocimiento de los beneficios que representa para la salud, sobre todo para la prevención de enfermedades crónico degenerativas.

V. OBJETIVOS

A. GENERAL

1. Determinar las propiedades antioxidantes de los jugos de frutas producidos industrialmente disponibles para su consumo en el área metropolitana de la ciudad de Guatemala.

B. ESPECIFICOS

1. Cuantificar la capacidad antioxidante total de jugos de fruta por el método de DPPH.
2. Determinar la cantidad de fenoles totales de jugos de fruta por el método de Folin-Ciocalteu.
3. Determinar la cantidad de vitamina C de jugos de fruta por HPLC.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

A. UNIVERSO

1. Universo

Jugos de fruta producidos industrialmente

2. Muestra

Jugos de fruta producidos industrialmente disponibles en establecimientos de autoservicio (supermercados) del área metropolitana de la Ciudad de Guatemala, tomando en cuenta marca, sabor, fecha de vencimiento y el tipo de presentación.

B. RECURSOS

1. Humanos

Paola Bolaños Porras	Tesista
Licda. Kenia Caballeros	Asesora-Técnica
Dr. Rubén Dariel Velásquez	Asesor
Licda. Julieta Salazar de Ariza	Asesora

2. Físicos

i. Equipo

- Espectrofotómetro (Espectronic 21D Milton Roy)
- HPLC (Merck-Hitachi serie Licrograph)
- Potenciómetro (Fisher Accumet pH Model 620)
- Balanza analítica (Mettler H 35 AR)
- Balanza semianalítica (Mettler Toledo PB 303 Delta Range)
- Vortex (Mistral Mixer Lab-line)
- Campana de flujo
- Baño de María
- Termómetro

- Gradillas

ii. Reactivos

Método de DPPH

- Metanol (EM Science para HPLC)
- 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) (SIGMA)
- Hidróxido de sodio (Merck)
- Acetato de sodio anhidro (Merck)
- Ácido acético glacial (Merck)
- Ácido clorhídrico (EM Science p.a)
- Agua destilada

Método de Folin

- Reactivo de Folin Ciocalteau (Merck)
- Carbonato de sodio (Merck)
- Ácido gálico (SIGMA)
- Agua destilada

Determinación de vitamina C

- Agua destilada
- Metanol (EM Science para HPLC)
- $\text{Na}_2\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ (Merck)
- Membranas de nylon diámetro/ poro = 13mm / 0.2 μm y 47 mm / 0.45 μm
Whatman

iii. Cristalería

- Vaso de Precipitar (100 ml, 250 ml y 1000 ml)

- Probetas (10 ml, 50 ml, 100 ml)
- Cubetas de lectura para espectrofotómetro
- Balones aforados (100 ml, 200 ml y 1000ml)
- Agitadores de vidrio
- Tubos pyrex para 10 ml

iv. Otros

- Micropipetas (5-40 μ l, 50-200 μ l y 200-1000 μ l) (Seropette Stanbio Laboratory)
- Micropipeteadores
- Macropipeteadores
- Tips
- Papel mayordomo
- Computadora personal
- Hojas
- Impresora
- Tinta
- Gasolina
- Fotocopias
- Internet
- Folders con gancho

3. Institucionales

- Departamento de Bioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.
- Biblioteca, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

C. PROCEDIMIENTOS

1. Determinación de capacidad antioxidante total por el método de Difenilpicrilhidrazilo (DPPH)

i. Preparación de reactivos

Reactivo de DPPH

- Para 100 ml de metanol se pesó 0.0219 gramos de 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo y se colocó en refrigeración en un recipiente de vidrio color ámbar.

Amortiguador de Acetato pH 6

- Para 1 litro se pesó 27.20 gramos de acetato de sodio anhídrido y se le agregó 50.52 ml de ácido acético glacial ajustándose a pH 6.0 con NaOH 6N.

ii. Pruebas preliminares DPPH

- Se centrifugó la alícuota de muestra, para evitar la sedimentación de ciertos compuestos,
- Se tomó una alícuota del sobrenadante del jugo.
- Se preparó cuatro diluciones, utilizando metanol, para obtener las siguientes diluciones finales: 1:5, 2:5, 3:5 y 4:5.
- Para cada una de las diluciones y el tubo sin diluir se preparó cuatro tubos según el esquema de pipeteo (ver tabla No. 3).

Tabla No. 3 Esquema de pipeteo DPPH

	Buffer (ml)	Metanol (ml)	Muestra (ml)	DPPH (ml)
Blanco	1.0	2.0	0.0	0.0
Control	1.0	1.5	0.1	0.5
Blanco-ensayo	1.0	1.9	0.1	0.0

Ensayo	1.0	1.4	0.1	0.5
--------	-----	-----	-----	-----

- Se realizó dos controles y dos ensayos para cada dilución. Las mezclas se agitaron en el vortex por 30 segundos y se incubaron a temperatura ambiente por 30 minutos protegidos de la luz.
- La absorbancia se leyó en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm contra el blanco respectivo. A partir de las absorbancias obtenidas se calculó el porcentaje de reducción del DPPH causado por los jugos utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{[\text{abs. Control} - \text{abs. Muestra}]}{\text{abs. Control}} * 100 = \%$$

A partir de éste se calculó el valor de IC₅₀ con la ecuación:

$$IC_{50} = \frac{50 - b}{m}$$

- De acuerdo a lo anterior se diluyó, liofilizó o concentró dependiendo si el porcentaje es mayor a 50% o menor a 50% respectivamente.
- Las diluciones realizadas abarcaron un porcentaje abajo y arriba del 50%.
- Se expresó el IC₅₀ como µl de jugo necesario para reducir el 50 % de DPPH.

2. Determinación de fenoles

i. Preparación de soluciones

Ácido gálico

- Para 10 ml de ácido gálico se pesó 10 mg del mismo en 10 ml de agua destilada.
- Se tomó 1 ml de la solución anterior y se diluyó en 9 ml de agua destilada (preparándose inmediatamente antes de su utilización).

Carbonato de sodio al 10%

- Se pesó 20 gramos de Na_2CO_3 y aforar a 200 ml con agua destilada.

ii. Medición de fenoles

- Se realizó una curva patrón utilizando el esquema de la tabla No. 4.

Tabla No. 4 Esquema de pipeteo curva patrón

	H ₂ O (ml)	Ácido gálico (ml)	Folin (ml)	Na ₂ CO ₃ 10% (ml)
Blanco	4.0	0.00	0.4	0.8
P ₁	3.975	0.25	0.4	0.8
P ₂	3.950	0.50	0.4	0.8
P ₃	3.900	1.00	0.4	0.8
P ₄	3.850	1.50	0.4	0.8
P ₅	3.800	2.00	0.4	0.8
P ₆	3.750	2.50	0.4	0.8

- Se realizó la medición de la muestra siguiendo el esquema de la tabla No.5

Tabla No. 5 Esquema de pipeteo fenoles

	H ₂ O (ml)	Jugo (ml)	Folin (ml)	Na ₂ CO ₃ 10% (ml)
M ₁	3.95	0.05	0.4	0.8
M ₂	3.90	0.10	0.4	0.8

- Se mezcló cada tubo y se colocó en baño de maría a una temperatura de $90^{\circ} - 100^{\circ} \text{C}$ por un minuto.
- Se dejó enfriar los tubos y se leyó la absorbancia correspondiente a cada solución a 765 nm.
- Con base en la curva patrón se obtuvo la siguiente ecuación de la recta:

$$\text{Eq Ac. gálico (} \mu\text{g)} = \frac{\text{Abs} - a}{b}$$

- Al obtener los Eq de ácido gálico se calculó los valores de Eq ácido gálico por mililitro de jugo, de la siguiente forma:

$$\mu\text{g Eq de Ac. gálico/ ml de jugo} = \frac{\mu\text{g Eq Ac. gálico}}{\text{Vol de muestra en ml}}$$

3. Determinación de vitamina C

i. Preparación de reactivos

Estándares de ácido ascórbico

- Para 10 ml de ácido ascórbico se pesó 10 mg del mismo en 10 ml de agua destilada.
- Se preparó con fase móvil seis diluciones: 1:200, 1:100, 1:67, 1:50, 1:40 y 1:33; obteniendo concentraciones de 50, 100, 150, 200, 250 y 300 $\mu\text{g/ ml}$ respectivamente.

Amortiguador de fosfatos

- Se pesó 1.5635 gramos de $\text{Na}_2\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ y se aforó con agua destilada a un litro.
- Se ajustó el pH a 3 con HCL concentrado.

Fase móvil

- Se diluyó 95 partes de amortiguador de fosfatos con 5 partes de metanol.

Todos los reactivos utilizados se filtraron antes de iniciar las inyecciones.

ii. Condiciones cromatográficas

- Columna: Acero inoxidable 125*4 mm DI
- Fase estacionaria: 9 Chospher 100RP-18 (5 µm)
- Fase móvil: Buffer de fosfatos pH 3/ metanol (95:5).
- Tipo de elusión: Isocrática
- Flujo: 0.8 ml/min
- Volumen inyección: 20 µl
- Detección: UV/Vis 265 nm
- Volumen celda de detector: 12 µl

iii. Inyección de estándares y muestra

- Se inyectó por duplicado los estándares de ácido ascórbico para obtener la curva patrón
- Se realizó mediciones de la muestra pura y diluída, de tal manera que los valores del área estén comprendidos entre los valores obtenidos en la curva.
- Se filtró las muestras utilizando membranas de nylon con diámetro de 13 mm y 0.2 µm (Whatman).
- Se inyectó 0.5 ml de la muestra pura o diluida, por duplicado.
- Se lavó tres veces con metanol entre cada inyección.
- Se integró las áreas obtenidas a la siguiente ecuación de la recta basada en la curva patrón:

$$X = \frac{\text{Area de pico} - a}{B}$$

B

- Se obtuvieron los valores de vitamina C con la siguiente igualdad:

$$\text{Vitamina C (mg/L)} = X * \frac{1 / 1000 \mu\text{g}}{1 / 1000 \text{ ml}}$$

D. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

1. Obtención de muestra

i. Muestra

- El número de muestra fue de 28 jugos de fruta de diferentes marcas y sabores, de acuerdo al cálculo realizado en el inciso (D. 3.).
- Los criterios de inclusión fueron: Jugos de fruta elaborados a partir de concentrados o jugos naturales que se encuentren para venta en supermercados, cuyo envase sea sólido, con fecha de vencimiento no menor a tres días.
- Los criterios de exclusión son los siguientes: Se excluyó del estudio los néctares, jugos de vegetales, bebidas con sabor artificial a fruta y los comúnmente llamados kukitos (ver anexo No. 1).

ii. Selección de muestra

- Previo al muestreo, se realizaron visitas de prospección a establecimientos de autoservicio (supermercados) para elaborar un listado preliminar de las diferentes marcas y sabores de jugos de frutas disponibles.
- Se seleccionaron dos establecimientos de distribución de alimentos (Supertienda e Hipertienda), representativos de tres distintos sectores de la población. Estos sectores se asocian a tres diferentes niveles de capacidad de consumo aparente (ver anexo No. 2).

- Se realizó un plan de muestreo y se eligió aleatoriamente el lugar a muestrear obteniendo tres diferentes grupos que representen los tres niveles de capacidad de consumo.
- Para lo anterior se realizó una selección aleatoria de todos los jugos que cumplan con el criterio de inclusión con relación a la lista de los seis diferentes lugares a muestrear, obteniendo el listado del anexo 3, y tomando en cuenta su composición, lo cual permitió formar dos grupos de jugos. El primero consta de aquellos jugos en que su etiqueta consignaba la presencia de aditivos, el segundo consta de aquellos que en su etiqueta no indicaba la presencia de aditivos, los cuales se denominaron naturales.

iii. Procedimiento de muestreo

- Con base a la disponibilidad de espacio físico en el laboratorio de investigación del departamento de Bioquímica, se escogieron dos días a la semana para muestrear, se muestrearon cuatro jugos por día ya que el análisis concluyó el mismo día del muestreo.
- Se realizó el muestreo a primera hora de la mañana, tomando los jugos directamente del supermercado y tomando en cuenta las fechas de elaboración. Los jugos que requirieron refrigeración se transportaron en una hielera y los que estaban a temperatura ambiente se transportaron en las mismas condiciones.
- Se anotaron los datos de cada jugo (ingredientes, fecha de vencimiento, lote, almacenamiento, volumen, etc.)
- Cuando el análisis de la muestra no se concluyó en el tiempo estipulado se almacenaron en el congelador alícuotas del jugo en un recipiente saturando con nitrógeno.

iv. Procesamiento y análisis de muestra

- Previo a su análisis se centrifugaron las muestras por 10 minutos a 3,000 rpm. Luego se trasvasó el sobrenadante a un tubo previamente identificado.
- Se trabajó con el sobrenadante y se realizó el procedimiento de cada determinación.

2. Tipo de muestreo

- Estudio descriptivo, prospectivo, transversal con un tipo de muestreo no probabilístico por conveniencia con un total de 28 muestras.

3. Tamaño de la muestra

Se calculó de la siguiente manera:

$$\text{(Población infinita)} \quad n = \frac{Nc^2 \cdot \sigma^2}{\Delta^2}$$

Donde: Nc = Nivel de confianza

σ = Varianza

Δ = Límite de confianza

Intervalo de confianza: $Z_{99\%} = 2.575$

$$\Delta = \frac{1}{2} \sigma$$

$$\Delta^2 = \frac{\sigma^2}{4} \qquad n = \frac{Nc^2 \cdot \sigma^2}{\sigma^2 / 4}$$

$$n = 4 Nc^2$$

$$95\% = n = 4 (1.96)^2 = 16$$

$$99\% = n = 4 (2.575)^2 = 27$$

4. Análisis de datos

Se hizo un análisis descriptivo. Se efectuó un promedio de la actividad antioxidante total, fenoles totales y vitamina C de las muestras analizadas homogenizando los datos. El aspecto más relevante fue la presencia o no de aditivos. En función de este aspecto los resultados fueron

divididos en dos grupos jugos naturales y con aditivos. Para cada uno de estas variables se calculo la media, desviación estándar e intervalo de confianza con un nivel del 99%.

Los resultados se expresaron de la siguiente forma:

1. Capacidad Antioxidante Total: En IC_{50} en μ l de jugo de fruta.
2. Fenoles Totales: En μ g Equivalentes de ácido gálico/ ml.
3. Vitamina C: En mg. de ácido ascórbico/L. de jugo de fruta.

Se calculó el intervalo de confianza con un nivel de confiabilidad del 99%. Se agruparon los resultados en dos grupos de acuerdo a la presencia o ausencia de aditivos, utilizando el valor medio que se obtuvo de las determinaciones que se realizaron por duplicado.

VII. RESULTADOS

En la tabla No. 1 se incluyeron los distintos tipos de jugos de frutas, la composición de los jugos muestreados fue muy variada por lo que los resultados fueron analizados formando dos grupos. El primero consta de jugos con aditivos, el segundo, su etiqueta no lo consignaba y se denominaron naturales. Se analizaron 7 diferentes marcas de jugos de fruta producidos industrialmente los cuales incluyeron: 14 jugos de naranja, 4 de uva, 4 de toronja, 2 de piña y 4 de manzana, para un total de 5 diferentes sabores. El jugo de naranja el que más frecuentemente se encontraba en los supermercados, por lo que se incluyó un mayor número de muestras de este sabor.

Tabla No. 1

Tipos de jugos de fruta, muestras y marcas incluidas en el estudio

Tipos de Muestra	No. de Muestras Analizadas	No. de Marcas
Naranja con aditivos	12	6
Naranja Natural	2	1
Uva con aditivos	2	1
Uva Natural	2	1
Manzana con aditivos	2	1
Manzana natural	2	1
Toronja con aditivos	4	2
Piña con aditivos	2	1
Total	28	7*

* Algunas marcas incluían más de un sabor.

En la tabla No. 2 se presentan los valores de los tres parámetros de actividad antioxidante expresados como media, desviación estándar y rangos. El jugo que mayor actividad antioxidante presentó fue el de naranja natural y el de menor actividad el de manzana natural, el jugo de uva con aditivos presentó la mayor cantidad de fenoles totales, en el caso de la vitamina C el jugo de naranja natural fue el de mayor concentración. Lo anterior se puede observar más detalladamente

en la gráfica No. 1 donde se presenta la dispersión intrarrangos de los tres parámetros antes descritos.

Tabla No. 2

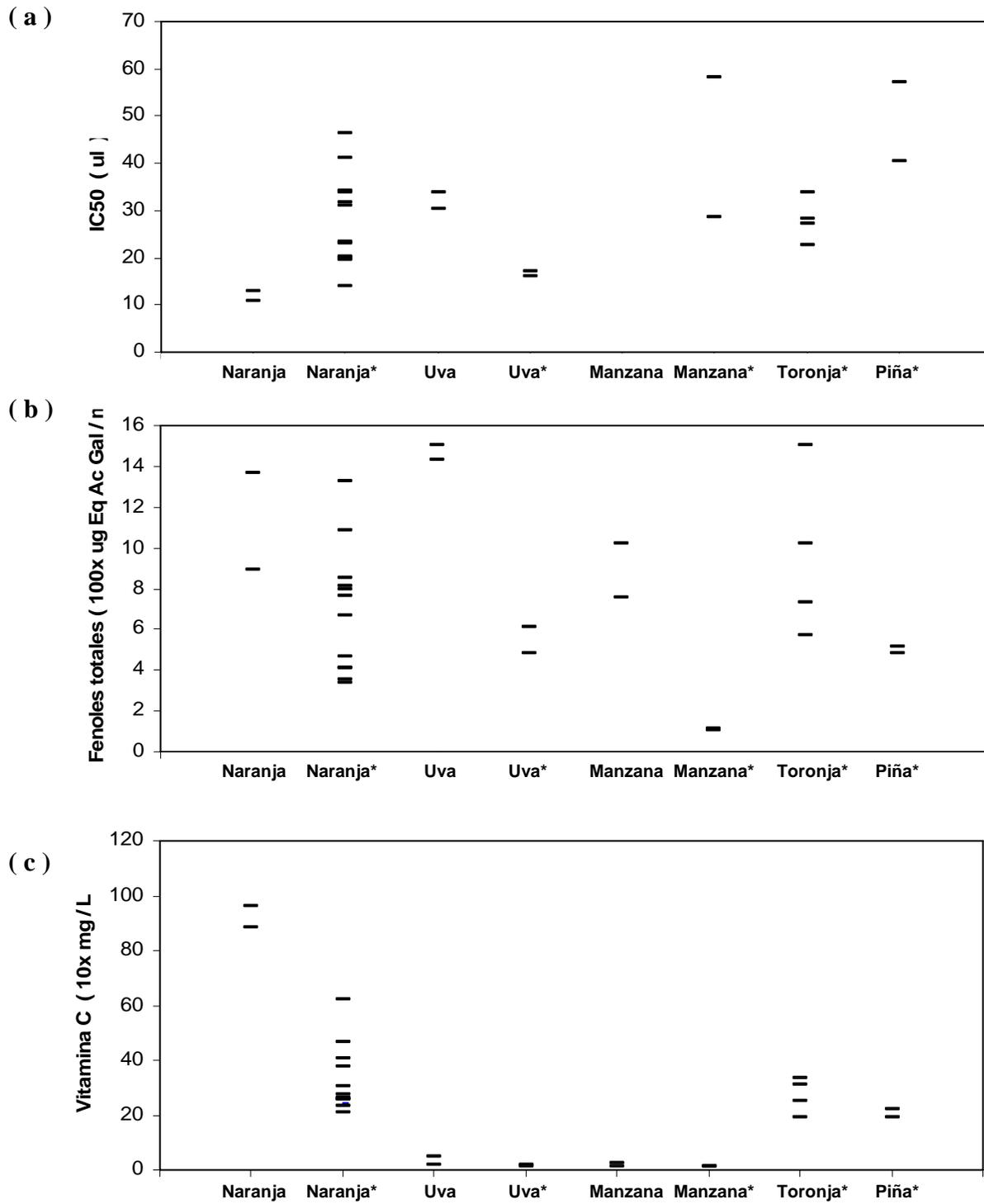
Valores de la actividad antioxidante total y del contenido de fenoles totales y vitamina C en jugos de frutas muestreados (N=28)

Muestra	Actividad Antioxidante Total (IC ₅₀ µl)	Fenoles Total µg Eq Acido Gálico /ml)	Vitamina C (mg/L)
Naranja con aditivos n= 2	29.5 ± 10.1 (13.9 – 46.3)	689.8 ± 311.8 (413.5 – 1363.5)	325.6 ± 121.8 (208.3 – 621.7)
Naranja natural n= 12	11.9 ± 1.6 (10.8 – 13.0) ¹	1127.9 ± 58.2 (892.4 – 1363.5)	922.2 ± 58.2 (881.1 – 963.4)
Uva con aditivos n= 2	16.5 ± 0.6 (16.0 – 16.9)	1466.9 ± 48.6 (1432.6 – 1501.4)	30.8 ± 19.9 (16.8 – 44.9)
Uva natural n= 2	32.0 ± 2.6 (30.2 – 33.8)	544.8 ± 90.2 (481.0 – 608.6)	15.6 ± 1.6 (14.5 – 15.0)
Manzana con aditivos n= 2	43.2 ± 20.9 (28.4 – 58.0)	887.1 ± 186.5 (755.3 – 1019.0)	20.3 ± 8.3 (14.5 – 26.2)
Manzana natural N= 2	---- nd ²	106.1 ± 4.2 (103.1 – 109.0)	9.1 ± 0.2 (9.0 – 9.2)
Toronja con aditivos N= 4	27.9 ± 4.6 (22.5 – 33.6)	957.5 ± 409.4 (570.9 – 1510.1)	272.3 ± 64.6 (190.6 – 334.4)
Piña con aditivos N= 2	48.9 ± 11.9 (40.5 – 57.3)	498.3 ± 20.4 (483.8 – 512.7)	205.6 ± 24.7 (188.1 – 223.1)

¹valores mínimos y máximos

² nd= no determinado, el IC₅₀ se estimo > 2,000 µl

Grafica No.1. Dispersión intrarrangos de actividad antioxidante total (a), contenido de fenoles totales (b) y contenido de vitamina C (c). Cada valor se muestra como un punto



* Jugos con aditivos

No se muestra el IC₅₀ del jugo de manzana natural (> 2000 ul)

En la tabla No. 3 se presentan los intervalos de confianza para los tres parámetros: actividad antioxidante total, fenoles totales y vitamina C, de los jugos con aditivos y los jugos naturales. Los intervalos de actividad antioxidante total fueron muy similares, los de fenoles totales y vitamina C fueron muy amplios.

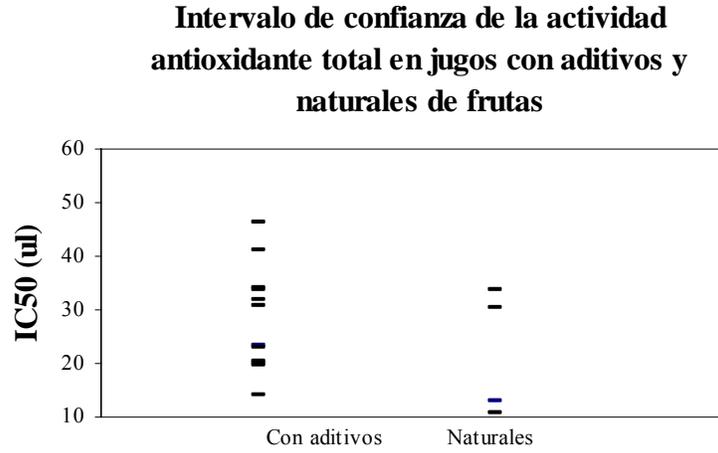
Tabla No. 3

Intervalos de confianza con un nivel del 99% de confiabilidad de la actividad antioxidante total, del contenido de fenoles totales y vitamina C de los jugos naturales y jugos con aditivos (N=28)

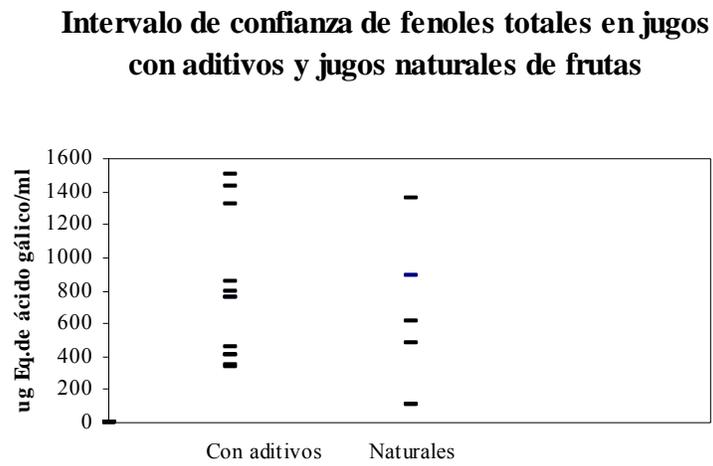
Muestra	Actividad Antioxidante Total (IC50_{μl})	Fenoles Total (μg Eq Acido Gálico /ml)	Vitamina C (mg/L)
Jugos naturales n=6	10.2-33.7	109.2-1076.7	0-786.2
Jugos con aditivos n = 22	18.0-42.3	436.5-1214.2	103.6-397.2

En la gráfica No. 7 se muestran los intervalos de confianza de los jugos de fruta con aditivos y los naturales. En (a) se puede observar los intervalos de la actividad antioxidante total, el grupo con aditivos presenta valores distribuidos casi uniformemente en todo el intervalo, los naturales aparecen en dos grupos en los extremos del intervalo; en (b) se presentan los intervalos de los fenoles totales, los jugos con aditivos presentan valores agrupados en tres grupos dentro del intervalo, los naturales están distribuidos más uniformemente; la vitamina C que se puede observar en (c), presenta un intervalo más estrecho para los jugos con aditivos y más amplio para los naturales.

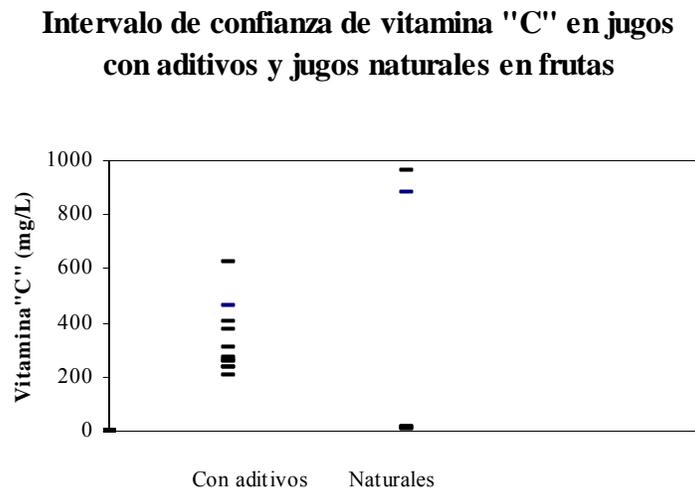
Gráfica No. 7
(a)



(b)



(c)



VIII. DISCUSION DE RESULTADOS

En el presente estudio se determinó la actividad antioxidante de los jugos de frutas disponibles en supermercados del área metropolitana de la Ciudad de Guatemala. Se incluyeron 28 jugos de fruta elaborados a partir de concentrados o jugos de fruta naturales, cuya fecha de vencimiento era mayor de tres días, con un tipo de empaque sólido. Las muestras analizadas incluyeron jugos de cinco diferentes sabores: 14 de naranja, 4 de uva, 4 de toronja, 2 de piña y 4 de manzana. Estos se colectaron de 6 establecimientos de conveniencia (supermercados), ubicados en tres diferentes zonas del área metropolitana, de acuerdo a la capacidad de consumo de la población.

Por el número de muestra obtenido se analizaron los datos de acuerdo a la presencia o ausencia de aditivos, no de acuerdo a su sabor o su marca por lo que los resultados que se obtuvieron se analizaron en dos grupos (jugos con aditivos y naturales).

Los métodos de determinación de actividad antioxidante total y determinación de fenoles totales utilizados en esta investigación fueron estandarizados por Caballeros, quien optimizó los métodos de DPPH y Folin-Ciocalteu; mientras que el método de determinación de vitamina C se utilizó en la investigación de Barahona y colaboradores (34, 42). Estos métodos han demostrado confiabilidad y sensibilidad en las mismas condiciones que las empleadas en esta investigación. Por la naturaleza de las muestras, se introdujo una pequeña variación consistente en la centrifugación de los jugos previamente a su análisis, con lo que se evitó la turbidez y sedimentación.

Con información del etiquetado, se estableció que los aditivos más utilizados fueron: ácido cítrico, ácido ascórbico, vitamina C, sorbato de potasio, β -caroteno y benzoato de sodio, entre otros; el de naranja tenía una combinación de hasta cuatro diferentes aditivos y el resto tiene uno o dos aditivos (ver anexo No. 5).

El jugo de naranja natural fue el que presentó mayor actividad antioxidante total (12 μ l); el jugo con menor actividad antioxidante total fue el jugo de manzana natural (>2,000 μ l). Este valor estimado de IC₅₀ del jugo de manzana podría deberse a los procesos de autooxidación que sufre la manzana al ser manipulada, lo que evidenció por el pardeamiento que sufre esta fruta. Los rangos de actividad antioxidante total del jugo de naranja natural fueron bastante estrechos (11 – 13 μ l), al igual el rango para el jugo de uva con aditivos (16 – 17 μ l). En cuanto a fenoles totales, el que presentó mayor cantidad fue el de uva con aditivos (1,467 μ g Eq de Ac. Gal. / ml).

Estudios realizados por Caballeros, indicaron que la uva fue uno de los frutos que mayor cantidad de fenoles tiene (34). El jugo que menor cantidad de fenoles presentó fue el de manzana natural (106 μ g Eq de Ac. Gal. / ml). La vitamina C se encontró abundante en el jugo de naranja natural (922 mg/L), no observándose lo mismo con el de manzana y uva los cuales presentaron valores muy por debajo de los demás valores (9-20 y 16- 31 mg/L, respectivamente) lo anterior se puede explicar ya que la naranja fue el único obtenido a partir de cítricos en esta muestra de jugos. Los jugos de frutas, a excepción del jugo de naranja natural y el jugo de toronja, presentaron niveles muy bajos de vitamina C probablemente porque la vitamina ya ha sido oxidada; es por ello que la mayoría de jugos obtenidos industrialmente son enriquecidos con este tipo de antioxidante que sirve no solo para enriquecer sino también como estabilizante (43). Debido a lo anterior, en la medición de vitamina C se prepararon y analizaron soluciones patrón de mayor concentración a las utilizadas en investigaciones anteriores (42).

Los intervalos de confianza calculados para los jugos de fruta en general (ver tabla No. 3), fueron muy amplios para los fenoles totales y vitamina C, esto puede explicarse por el hecho de que el análisis se realizó con jugos tanto con aditivos como naturales. En esta variabilidad también entran en juego otros factores que el investigador no puede controlar, por ejemplo el hecho de que procedían de diferentes frutas así como de diferentes procesos de elaboración de acuerdo a cada marca analizada. Se debe considerar además, que en el caso del jugo de naranja natural es el único cítrico en el grupo de jugos naturales. Los jugos naturales presentaron un intervalo de confianza muy amplio en la determinación de vitamina C, probablemente debido a

que esta vitamina es oxidada durante el procedimiento de elaboración y tiempo de almacenamiento (43).

En general, el jugo de naranja natural fue mejor que el resto de jugos con relación a la actividad antioxidante en los tres parámetros determinados, siguiendo los jugos con aditivos los cuales también mantuvieron cierta capacidad antioxidante.

Con base en los resultados obtenidos en este estudio, se puede inferir que la capacidad antioxidante total que recibirá una persona al ingerir un vaso de jugo de naranja natural (250 ml) es equivalente a la que obtendría si bebe cuatro vasos de jugo de piña con aditivos (1,000 ml). En el caso del jugo de manzana natural, del cual no se pudo determinar su valor de IC_{50} ($>2,000 \mu l$), sería necesario consumir más de 168 vasos para obtener una cantidad equivalente de antioxidantes.

Los aditivos consignados en los jugos analizados en esta investigación, deben de cumplir con la norma COGUANOR 34 192 la cual indica que los aditivos utilizados se pueden emplear para conservar la calidad nutricional del alimento, aumentar la calidad de conservación o estabilidad de un alimento y proporcionar ingredientes o constituyentes a los alimentos. Algunos aditivos presentes en los jugos tienen diferentes funciones actuando como conservadores (benzoato y sorbato de potasio), surfactantes (ácido cítrico), antioxidantes (ácido ascórbico, ácido cítrico) y colorantes (β -caroteno). Estos aditivos no pueden exceder ciertas concentraciones ya que pueden causar efectos adversos, tal es el caso de los surfactantes, los cuales en concentraciones arriba de las permitidas puede causar efecto laxante. La mayoría de conservadores utilizados en la industria son derivados o pueden formarse a partir de compuestos fenólicos (ver anexo No. 5), debido a lo anterior los jugos con aditivos tienden a tener mayor cantidad de fenoles que los jugos naturales (43).

También se deben mencionar las ventajas y desventajas que tienen los jugos analizados con respecto a otros factores. Uno de ellos es la disponibilidad y el precio de los jugos; siendo el jugo

de naranja con aditivos el que se encuentra más disponible en el mercado, mientras que el jugo natural del mismo sabor no se encuentra disponible en la mayoría de lugares, posiblemente por su reducida vida de anaquel y porque su precio es tres veces y media (3.5) más alto que los jugos del mismo sabor que contienen aditivos. En el caso de los demás jugos con aditivos se observó que presentan mejor capacidad antioxidante total sobre todo en el de uva, el cual presenta elevada cantidad de fenoles totales y su vida de anaquel es más larga que la de naranja natural, por lo que su consumo no se ve restringido (ver anexo No.6). La temperatura de almacenamiento podría ser otro factor muy importante ya que la mayoría de jugos con aditivos no necesitan refrigeración y los naturales si.

En general este trabajo demostró las propiedades antioxidantes de los jugos de fruta producidos industrialmente; de estos, los jugos de naranja con aditivos y natural presentaron los mayores valores, por lo que representan una buena alternativa para la obtención de sustancias antioxidantes por medio de productos alimenticios que forman parte de la dieta de un sector considerable de la población. Estos se encuentran disponibles permanentemente en el mercado y tienen un precio accesible, por el contrario, algunas frutas sólo están disponibles en ciertas épocas del año.

IX. CONCLUSIONES

- A. El jugo que mayor actividad antioxidante total presentó fue el de naranja natural.
- B. El jugo de manzana presentó el valor mínimo de contenido de actividad antioxidante total, de fenoles totales y de vitamina C.
- C. El jugo de uva con aditivos fue el que presentó mayor cantidad de fenoles totales.
- D. La actividad antioxidante total en el jugo de uva con aditivos esta determinada en mayor cantidad por los fenoles totales.
- E. Los jugos de fruta que provienen de cítricos fueron los que mayor vitamina C presentaron.
- F. En las condiciones en que se realizó este estudio, la presencia o ausencia de aditivos no influyen en la capacidad antioxidante total que presentan los jugos.

X. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda utilizar los resultados de este trabajo en actividades que den a conocer las bondades de los jugos de fruta como fuente de sustancias antioxidantes, con lo que se estará contribuyendo a promover su consumo.
2. Se recomienda la centrifugación de los jugos de fruta, previamente a su análisis, con lo que se estarán evitando las interferencias en las mediciones ópticas y la sedimentación de las muestras.
3. Se recomienda realizar otras investigaciones en las que se incluya un mayor número de muestras, para establecer si existen diferencias en la capacidad antioxidante de jugos de distintos sabores y marcas.

IX. REFERENCIAS

1. Halliwell B. Antioxidantes. (pp 636-642) En: Ekhard E., Ziegler, Filer LJ Jr. eds. Conocimientos actuales sobre nutrición. 7 ed. México: Instituto Internacional de Ciencias de la Vida, 1996. 731p.
2. Elliot J. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. Food Technol. 1999;53:46-48.
3. Cervato G *et al.* Antioxidant properties of Orégano (*Origanum vulgare*) leaf extracts. J. Food Biochem. 2000;24:453-465.
4. Rauma A., Mykkänen H. Antioxidant status in vegetarians versus omnivores. Inter. J. Applied Basic Nutri. Sci. 2000;16:111-119.
5. Giese J. Antioxidants tools for preventing lipid oxidation. Food Technol. 1996;73-
6. Olalla L., Mettès JM. Radicales libres de oxígeno y enzimas antioxidantes. Disponible en: www.ciencias.uma.es/publicaciones/encuentros/ENCUENTROS56/radicales.html. 6/10/02.
7. Román O. Radicales libres. Disponible en: www.udec.cl/~ofem/revista/revista01/revista5.html. 6/10/02.
8. Olalla L. El proceso de lipoperoxidación. Disponible en: www.antioxidantes.com.ar/12/Art118.htm. 6/10/02.
9. Majem L., Barteina A., Verdú M. Nutrición y Salud Pública. España: Masson, 1994. (pp. 203-205, 353-357).
10. Matsingou TC., Kapsokefalou M., Salipoglou A. In vitro antioxidant activity of black tea and Mediterranean herb infusions toward iron under simulated gastrointestinal conditions. J. Food Sci. 2000;65:1060-1065.
11. Kaogi E. Unconventional therapies for Cancer; Vitamins A, C and E. Canad. Med. Associ. J. June 2, 1998;158(11):1483-1488).
12. Osuna J., Wall M., Waddell C. Natural antioxidants for preventing loss in stored Paprika. J. Food Sci. 1997;67:1017-1021.
13. Roche. Antioxidant vitamins. Doc. Tec. 12p (pp1-5).

14. Patología de los radicales libres y su prevención con vitaminas antioxidantes; El β -caroteno, la vitamina E y la vitamina C en la profilaxis de las enfermedades. Doc. Tec. 12p (p3-9).
15. Solórzano H. Los antioxidantes nutricionales y el cáncer. Disponible en: www.hector.solorzano.com/articulos/cancer2.htm. 14/10/02.
16. Pszczola D. Antioxidant take center stage. Food Technol. 1998;52:140-154.
17. Ruhe RC., McDonald RB. Use of antioxidant nutrients in the prevention and treatment of Type 2 Diabetes. J. Am. Coll. Nutr. 2001;20:363S-369S.
18. "Vitamina C" Estructura química, absorción, metabolismo. Disponible en: www.nutrinfo.com.ar/pagina/info/vitc0.html. Mayo 2000. 6/10/02.
19. Johnston C., Cox S. Plasma-saturating intakes of vitamin C confer maximal antioxidant protection to plasma. J. Am. Coll. Nutr. 2001;20:623-627.
20. Clark-Reyes C. Nutrition information and facts. Disponible en: www.efficientlabs.com/spahtm/antioxidants.htm. 6/10/02.
21. Hennig B., Toborek M., McClain C. Antioxidant-like properties of Zinc in activated endothelial cells. J. Am. Coll. Nutr. 1999;18:152-158.
22. Martínez I., Periago M., Rose G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Arch. Lati. Nutr. 2000;50:5-15.
23. Cadenas E. Sustancias flavonoides. Revisión temática. Department of Molecular Pharmacology & Toxicology. School of Pharmacy. University of Southern California, Los Angeles. Disponible en: www.antioxidantes.com.ar/12/Art020.htm. 6/10/02.
24. Makris D., Rossiter J. Hydroxyl free radical-mediated oxidative degradation of quercetin and morin: a preliminary investigation. J. Food Comp. & Analysis. 2002;15:103-113.
25. Amakura Y *et al.* Influence of jam processing on the radical scavenging activity and phenolic content in berries. J. Agric. Food Chem. 2000;48:6292-6297.
26. Gil-Izquierdo A *et al.* In vitro availability of flavonoids and other phenolics in orange juice. J. Agric. Food Chem. 2001;49:1035-1041.
27. Futura S., Nishiba Y., Suda I. Fluorometric assay for screening antioxidative activity of vegetables. J. Food Sci. 1997;62:265-267.

28. Aistarán I., Martínez JA. Alimentos composición y propiedades. México: McGraw Hill Interamericana, 1999. 364p. (pp.202-205, 298-307).
29. Charley H. Tecnología de los alimentos. 2 ed. México: Limusa. 1989. 767p. (pp.713-714).
30. Gil M *et al.* Antioxidant activity of Pomegranate juice and its relationship with Phenolic composition and processing. *J. Agric. Food Chem.* 2000;48:4581-4589.
31. Wang SY., Stretch AW. Antioxidant capacity in Cranberry is influenced by cultivar and storage temperature. *J. Agric. Food Chem.* 2001;49:969-974.
32. Potter N. Ciencia de los alimentos. México: Limusa,1998. 670 p. (p.558-569).
33. Ayhan Z *et al.* Flavor, color, and Vitamin C retention of pulsed electric field processed orange juice in different packaging materials. *J. Agric. Food Chem.* 2001;49:669-674.
34. Caballeros K. Optimización de dos métodos para el tamizaje de la actividad antioxidante de extractos vegetales. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2001. 54 p. (pp 17-19)
35. Standley L *et al.* Influence of processing stages on antimutagenic and antioxidant potentials of Rooibos Tea. *J. Agric. Food Chem.* 2001;49:114-117.
36. Silva F *et al.* Phenolic acids and derivatives: studies on the relationship among structure, radical scavenging activity, and physicochemical parameters. *J. Agric. Food Chem.* 2000;48:2122-2126
37. Yen G., Chen H., Peng H. Antioxidant and pro-oxidant effects of various tea extracts. *J. Agric. Food Chem.* 1997;45:30-34.
38. Yamaguchi F *et al.* Free radical scavenging activity and antiulcer activity of Garcinol from *Garcinia indica* fruit rind. *J. Agric. Food Chem.* 2000;48:2320-2325.
39. Plummer D. Introducción a la Bioquímica práctica. Colombia: McGraw-Hill Latinoamericana, 1981. 345p. (p. 137).
40. Manual de Prácticas de Laboratorio de Biomoléculas y Bioquímica. Guatemala: Universidad de San Carlos, 1999.
41. Cotto I. Contenido de cuatro Vitaminas en Chomtee (*Lysianthes synanthera* B.), Gushnay (*Spathiphyllum phrynifolium*) y Madre de Maíz (*Dioscorea convolvulaceae*). Guatemala:

Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1999. 74p. (pp. 32-35).

42. Barahona A *et al.* Actividad Antioxidante de Frutas Autóctonas de Guatemala. Atti-Resumenes. XI Congreso Italo-Latianoamericano Di Etnomedicina “ *Alberto Di Capua*”. Roma: 2002;9.
43. Comisión de Normas COGUANOR 34 192, Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano. Ministerio de Economía, Guatemala, C.A.

XII. ANEXOS

Anexo 1

Definiciones:

- Néctares: Producto constituido por el jugo y la pulpa de la fruta, finamente dividida y tamizada, adicionada de agua potable, azúcar y si es necesario de un ácido orgánico apropiado; convenientemente preparado y sometido a un tratamiento adecuado que asegure su conservación en envases herméticos (Coguanor 34107).
- Bebidas de frutas: Son líquidos resultantes de la presión de las frutas frescas o parcialmente fermentadas, que se obtienen exprimiéndolas o mojándolas. También se pueden obtener a partir de concentrados de jugos de fruta por dilución con agua. Estos líquidos han de estar elaborados con jugo de frutas, sabor artificial de frutas, agua potable o mineral, azúcar, preservantes y otros productos autorizados según las normas de cada país.
- Kukitos: Se le llama a todo aquel producto envasado en bolsa flexible de material plástico, es conocido popularmente con otros nombres tales como “cuquito”, “topogigio” o “topoyio”, etc (Coguanor NGO-34215).

Anexo 2

Lugares de Muestreo

- Grupo 1
 - A Paiz Pradera
 - B Hiper Paiz Puerta Parada

- Grupo 2
 - C Hiper Paiz Roosevelt
 - D Paiz San Cristóbal

- Grupo 3
 - E Paiz Montserrat
 - F Hiper Paiz Metro Norte

Anexo 3

Diseño de muestreo

SABOR	MARCA	A	B	C	D	E	F
Naranja	001	x					x
Naranja	002				xx		
Uva			x			x	
Toronja		x				x	
Manzana		x				x	
Naranja	003		x	x			
Uva	004		x				x
Manzana					x	x	
Naranja	005	x				x	
Naranja	006		x				x
Naranja	007			x			x
Toronja					xx		x
Piña					x		x
Naranja					xx		
Natural							

Anexo 4

Día de Muestreo	A	B	C	D	E	F
Día 1	Naranja 001 Toronja 002 Manzana 002 Naranja 005					
Día 2		Uva 002 Naranja 003 Uva 004 Naranja 006				
Día 3			Naranja 003 Naranja 007	Naranja 002 Naranja 002		
Día 4				Manzana 004 Toronja 007 Toronja 007 Piña 007		
Día 5				Naranja N 007 Naranja N 007	Uva 002 Toronja 002	
Día 6					Manzana 002 Manzana 004 Naranja 005	Naranja 001
Día 7						Uva 004 Naranja 006 Naranja 007 Piña 007

Anexo No. 5

a). Aditivos presentes en los jugos de fruta

Sabor de Jugos	Mezcla A	Mezcla B	Mezcla C	Acido Cítrico	Benzoato	Vitamina C
Naranja	2	2	2	2		4
Uva						2
Manzana						2
Toronja				2		2
Piña					2	

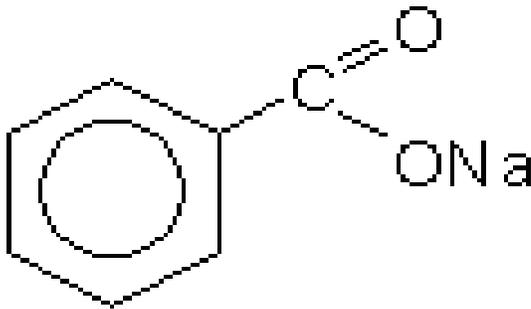
Mezcla A: Ac. Cítrico, Ac. Ascórbico, Benzoato, Sorbato de potasio y betacaroteno.

Mezcla B: Ac. Cítrico, vitamina C y betacaroteno.

Mezcla C: Ac. Cítrico, Ac. Ascórbico, Benzoato, Sorbato de potasio.

Fuente: Etiquetas de los jugos muestreados en esta investigación.

b). Estructura del Benzoato de Sodio conservante



Anexo No. 6

Tabla con fechas de vencimiento de los jugos de fruta muestreados en esta investigación

Muestra	Fecha de Compra	Fecha de Vencimiento
Naranja 001	25/09/02	26/10/02
	10/10/02	01/12/02
Naranja 002	1/10/02 (2)	14/03/03
		18/02/03
Naranja 003	29/09/02	27/09/02
	1/10/02	20/12/03
Naranja 005	25/09/02	03/10/02
	10/10/02	26/10/02
Naranja 006	26/09/02	04/10/02
	15/10/02	20/10/02
Naranja 007	1/10/02	23/10/02
	15/10/02	14/10/02
Naranja Natural 007	8/10/02 (2)	06/10/02
Uva 002	26/09/02	10/10/03
	8/10/02	10/10/03
Uva 004	26/09/02	31/07/04
	15/10/02	
Manzana 002	25/09/02	24/09/03
	10/10/02	18/10/03
Manzana 004	03/10/02	27/10/02
	10/10/02	20/10/02
Toronja 002	25/09/02	17/04/03
	08/10/02	17/04/03
Toronja 007	03/10/02 (2)	10/10/02
		27/09/02
Piña 007	03/10/02	23/10/03
	15/10/02	19/10/02

Fuente: Etiquetas de los jugos muestreados en esta investigación.

Anexo No. 7**Actividad antioxidante total y contenido de fenoles totales y vitamina C en jugos de frutas**

Muestra	Actividad antioxidante Total		Fenoles Totales		Vitamina C	
	IC ₅₀ (μl)		(μg Eq. Ac. Gal /ml)		(mg/L)	
Naranja 001	23.2	13.9	762.7	797.2	466.7	621.7
Naranja 002	23.0	19.9	814.2	1086.1	257.1	265.1
Naranja 003	19.6	20.3	851.2	1328.3	404.0	378.4
Naranja 005	40.9	31.8	410.2	334.4	307.4	255.2
Naranja 006	34.2	30.8	413.5	353.0	272.7	237.5
Naranja 007	46.3	33.8	462.9	664.0	208.3	232.7
Naranja Natural 007	13.0	10.8	892.4	1363.5	881.1	963.4
Uva 002	16.9	16.0	1501.4	1432.6	16.8	44.9
Uva 004	33.8	30.2	608.6	481.0	15.0	14.5
Manzana 002	58.0	28.4	755.3	1019.1	14.5	26.2
Manzana 004	> 2000.0	>2000.0	103.1	109.1	9.0	9.3
Toronja 002	22.5	27.2	734.8	570.9	312.2	334.4
Toronja 007	33.6	28.3	1505.1	1019.2	190.6	252.0
Piña 007	57.3	40.5	512.7	483.8	223.1	188.2

Fuente: Datos obtenidos en esta investigación

Anexo No. 8

Fechas y lugares de compra de jugos de fruta incluidos en el estudio

Muestra	Fecha y Lugares* de Muestreo					
	A	B	C	D	E	F
Naranja 001	25-9-02				10-10-02	
Naranja 002			1-10-02 (2)			
Naranja 003		26-9-02	1-10-02			
Naranja 005	25-9-02				10-10-02	
Naranja 006		26-9-02				15-10-02
Naranja 007			1-10-02			15-10-02
Naranja Natural 007				8-10-02 (2)		
Uva 002		26-9-02		8-10-02		
Uva 004		26-9-02				15-10-02
Manzana 002	25-9-02				10-10-02	
Manzana 004				3-10-02	10-10-02	
Toronja 002	25-9-02			8-10-02		
Toronja 007				3-10-02 (2)		
Piña 007				3-10-02		15-10-02

Determinación de las propiedades antioxidantes de los jugos de fruta producidos industrialmente disponibles para su consumo en el área metropolitana de la Ciudad de Guatemala

Brenda Paola Bolaños Porras¹, Elsa Julieta Salazar de Ariza², Rubén Dariel Velásquez Miranda³.

¹Licenciada en Química Biológica. ²Departamento de Alimentos, Escuela de Nutrición y ³Departamento de Bioquímica, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala. rvelasqz@usac.edu.gt

RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar las propiedades antioxidantes de jugos de frutas producidos industrialmente, disponibles para su consumo en el área metropolitana de la ciudad de Guatemala. Se incluyeron en la investigación 28 jugos adquiridos en seis supermercados del área metropolitana de la Ciudad de Guatemala; estos incluyeron establecimientos medianos y grandes, a donde asisten personas de baja, mediana y alta capacidad de consumo aparente. Las muestras analizadas incluyeron 14 jugos sabor de naranja, 4 de uva, 4 de manzana, 4 de toronja y 2 de piña, colectados en un lapso de 5 semanas en los meses de septiembre y octubre 2002. La **capacidad antioxidante total** se expresó como IC₅₀, que es el volumen de jugo que consume el 50% del radical α, α -difенил- β -picrilhidrazilo (DPPH); para conocer en forma general la naturaleza de los compuestos que confieren esta actividad se determinó el **contenido de fenoles totales** por la reacción de Folin Ciocalteu y **vitamina C** mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Todos los jugos analizados presentaron actividad antioxidante, las que variaron en un amplio rango. El jugo que mayor actividad antioxidante presentó fue el de naranja natural con un IC₅₀ de 12 μ l, un contenido de fenoles totales de 1.13 mg de Equivalentes de Acido Gálico / ml y 922 mg/L de vitamina C. El jugo de menor actividad antioxidante fue el jugo de manzana natural, del que se estimó un IC₅₀ >de 2,000 μ l y se determinaron 0.11 mg de Equivalentes de Acido Gálico / ml y 9 mg/L de vitamina C. Los resultados se presentan agrupando los datos de acuerdo a los cinco sabores estudiados y de acuerdo a la presencia o ausencia de aditivos.

I. INTRODUCCIÓN

El cuerpo humano genera radicales libres, los cuales son moléculas que contienen uno o más electrones no apareados, por lo que son moléculas muy reactivas. Los radicales libres se producen en la mayor parte de las células corporales como subproductos del metabolismo; así mismo, se forman por una serie de reacciones, las cuales pueden ser inducidas por estrés, contaminación, mala alimentación, tabaco, fármacos y drogas, entre otros (1).

Los antioxidantes neutralizan y previenen la oxidación causada por los radicales libres, creando un equilibrio para evitar que los mismos causen daño a las biomoléculas y destrucción celular (2). Los antioxidantes naturales endógenos son aquellos que se producen en el organismo; incluyen una serie de sistemas enzimáticos que llevan a cabo un sin fin de reacciones bioquímicas. También se pueden obtener antioxidantes exógenos en la dieta. El consumo constante de sustancias antioxidantes ha sido relacionado con la disminución del riesgo de sufrir enfermedades crónicas degenerativas (3-4).

Entre los alimentos que poseen mayor cantidad de antioxidantes se encuentran las frutas y hortalizas; éstas por su carácter estacional, están disponibles únicamente en época de su cosecha. Actualmente existe una variedad de bebidas (jugos naturales, jugos procesados y néctares) producidos industrialmente a partir de frutas y hortalizas. Los jugos han llegado a constituirse en una alternativa al consumo de los respectivos vegetales frescos, debido a que estos últimos no están disponibles todo el año o por la sencilla razón que su sabor y su presentación los hace atractivos, especialmente para los sectores más jóvenes de la población.

El objetivo de esta investigación fue determinar la capacidad antioxidante de los jugos de fruta producidos industrialmente y que se encuentran disponibles para su consumo en el área metropolitana de la Ciudad de Guatemala. La actividad antioxidante total se determinó por la prueba del α, α -difенил- β -picrilhidrazilo (DPPH), el **contenido de fenoles totales** por la reacción de Folin Ciocalteu y **vitamina C** mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

II. METODOLOGÍA

Muestra. 28 jugos colectados en seis establecimientos de autoservicio (supermercados) del área metropolitana de la Ciudad de Guatemala; se incluyeron establecimientos medianos y grandes, a los que asisten personas de baja, mediana y alta capacidad de consumo aparente. Los jugos analizados incluyeron 14 jugos de sabor naranja, 4 de uva, 4 de manzana, 4 de toronja y 2 de piña, colectados en un lapso de 5 semanas en los meses de septiembre y octubre 2002. La colecta se realizó mediante una lista previamente elaborada, en la que se indicaba el sabor y el establecimiento a ser muestreados. Un jugo de la presentación más pequeña disponible se eligió al azar entre los de su tipo, comprobando que la fecha de vencimiento no hubiese expirado. Los jugos mantenidos en refrigeración en el expendio fueron transportados en hieleras, los que estaban expuestos a temperatura ambiente se transportaron en bolsas plásticas “de compra”. Las muestras fueron analizadas el mismo día de su colecta.

Procesamiento de la muestra. Las muestras se centrifugaron por 10 minutos a 3,000 RPM. Cuando fue necesario, los jugos se diluyeron previamente a su análisis usando metanol para las muestras analizadas mediante la prueba del DPPH o de Folin Ciocalteu. Las muestras para el análisis de vitamina C por HPLC fueron diluidas con una mezcla 95:5 de buffer de fosfatos pH 3 y metanol *-fase móvil-*. En caso de jugos con poca actividad antioxidante, estos se concentraron bajo corriente de nitrógeno y baño de María a 50-60 °C.

Determinación de capacidad antioxidante total por el método de α,α -difencil- β -picrilhidrazilo (DPPH). 100 μ l de jugo se mezclaron con 2.9 ml de 37.8 ppm de DPPH disueltos en una solución de metanol-buffer de acetatos 0.1 M a pH 6 (1.9:1). La mezcla se dejó reaccionar 30 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. Se determinó la absorbancia a 517 nm al inicio y al final de la incubación. Se ajustó la concentración del jugo para calcular el volumen de éste que causaba la disminución del 50% de absorbancia (IC_{50}). La determinación se realizó por triplicado (5).

Determinación de los Fenoles Totales por el método de Folin Ciocalteu. 50 μ l de jugo se hicieron reaccionar con 5.15 ml de reactivo de Folin diluido (1:12.9) con Na_2CO_3 (1.68%, p/v) a 90-100 °C por un minuto. El procedimiento se efectuó también con 100 μ l de jugo. Después que la mezcla

alcanzó temperatura ambiente, se midió la absorbancia a 765 nm. Como curva se analizaron de la misma forma soluciones patrón de 5 a 100 mg de ácido gálico (equivalente de miligramo de ácido gálico o mg Eq. Ac. Gal.).

Determinación de la vitamina C por HPLC. 20 μ l de jugo se inyectaron en un sistema de HPLC con una columna C_{18} (LiChrospher 100, 5 μ m, Merck), de 12.5 mm por 4 mm DI; el análisis se efectuó con elución isocrática (8 ml/min de buffer de fosfatos pH 3-metanol; 95:5), y detección a 265 nm. La curva patrón se generó con el análisis similar de ácido ascórbico (50-300 μ g/ml).

III. RESULTADOS

Las 28 muestras incluidas en este estudio, correspondían a 5 sabores (naranja, uva, manzana, toronja y pina) y 7 marcas distintas. En la tabla No. 1 se muestran los promedios, desviaciones estándar y los rangos de los resultados obtenidos; los jugos de cada sabor se clasificaron en dos grupos: “*naturales*”, en cuya etiqueta no se indicaba el uso de aditivos, y “*con aditivos*”, cuando sí se indicaba su presencia. El jugo de naranja natural es el que presenta mayor actividad antioxidante total ($IC_{50} = 12 \mu$ l), el jugo de manzana natural la menor actividad ($IC_{50} > 2,000 \mu$ l). En cuanto a fenoles totales, los jugos de uva con aditivos y el de naranja natural presentaron los mayores contenidos (1,467 y 1,128 μ g Eq de Ac. Gal. / ml, respectivamente); el jugo con el menor contenido fue el de manzana natural (106 μ g Eq de Ac. Gal. / ml). El jugo de naranja natural tuvo las concentraciones más altas de vitamina C (922 mg/L) y el de manzana natural las más bajas (9 mg/L).

La forma en que se dispersaron los valores para cada uno de los parámetros determinados se muestra en la gráfica No. 1 (presentada en la página posterior a la de las tablas), en la que cada uno de los valores se plotearon en grupos que corresponden a los de la tabla No. 1 (grupos de datos por sabor y si son naturales o con aditivos).

En la tabla No. 2 se presentan los intervalos de confianza (confiabilidad 99%) de los tres parámetros actividad antioxidante total, fenoles totales y vitamina C; de los jugos naturales y los jugos con aditivos. Los intervalos de actividad antioxidante total de los jugos naturales y con aditivos fueron muy similares entre sí; los intervalos de fenoles totales y vitamina C fueron muy amplios.

Tabla No. 1
Valores de la actividad antioxidante total y del contenido de fenoles totales y vitamina C en jugos de frutas muestreados (N=28)

Muestra	Actividad Antioxidante Total (IC ₅₀ µl)	Fenoles Total Eq Acido Gálico (µg /ml)	Vitamina C (mg/L)
Naranja con aditivos n=12	29.5 ± 10.1 (13.9 – 46.3)	689.8 ± 311.8 (413.5 – 1363.5)	325.6 ± 121.8 (208.3 – 621.7)
Naranja natural n=2	11.9 ± 1.6 (10.8 – 13.0)	1127.9 ± 58.2 (892.4 – 1363.5)	922.2 ± 58.2 (881.1 – 963.4)
Uva con aditivos n=2	16.5 ± 0.6 (16.0 – 16.9)	1466.9 ± 48.6 (1432.6 – 1501.4)	30.8 ± 19.9 (16.8 – 44.9)
Uva natural n=2	32.0 ± 2.6 (30.2 – 33.8)	544.8 ± 90.2 (481.0 – 608.6)	15.6 ± 1.6 (14.5 – 15.0)
Manzana con aditivos n=2	43.2 ± 20.9 (28.4 – 58.0)	887.1 ± 186.5 (755.3 – 1019.0)	20.3 ± 8.3 (14.5 – 26.2)
Manzana natural n=2	---- nd*	106.1 ± 4.2 (103.1 – 109.0)	9.1 ± 0.2 (9.0 – 9.2)
Toronja con aditivos n=4	27.9 ± 4.6 (22.5 – 33.6)	957.5 ± 409.4 (570.9 – 1510.1)	272.3 ± 64.6 (190.6 – 334.4)
Piña con aditivos n=2	48.9 ± 11.9 (40.5 – 57.3)	498.3 ± 20.4 (483.8 – 512.7)	205.6 ± 24.7 (188.1 – 223.1)

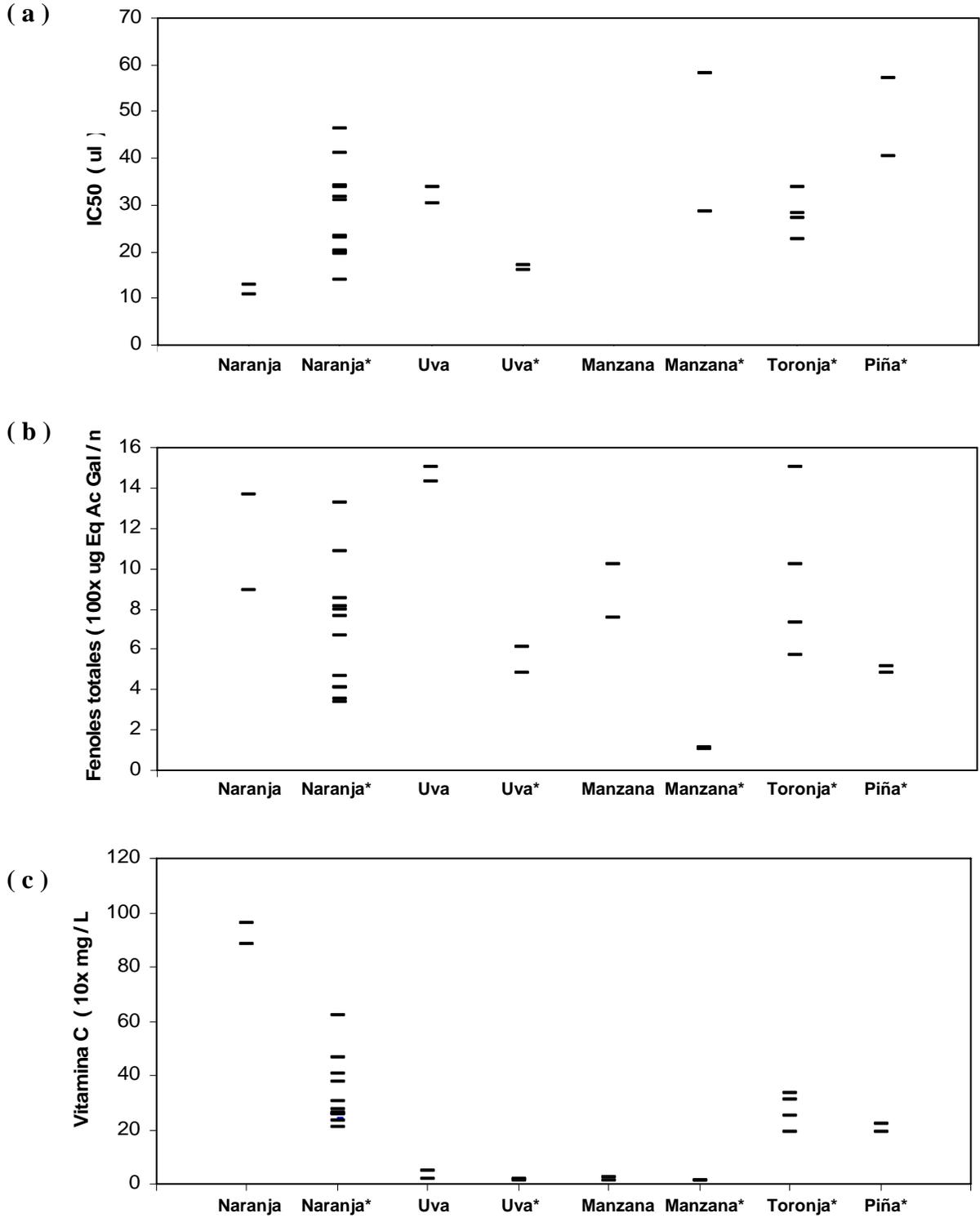
¹valores mínimos y máximos

²nd= no determinado, el IC₅₀ se estimó > 2,000 µl

Tabla No. 2
Intervalos de confianza con un nivel del 99% de confiabilidad de la actividad antioxidante total, del contenido de fenoles totales y vitamina C de los jugos con aditivos y jugos naturales (N=28)

Muestra	Actividad Antioxidante Total (IC ₅₀ µl)	Fenoles Total Eq Acido Gálico (µg /ml)	Vitamina C (mg/L)
Jugos naturales n=6	10.2 - 33.7	109.2 - 1076.7	0 - 786.2
Jugos con aditivos n = 22	18.0 - 42.3	436.5 - 1214.2	103.6 - 397.2

Grafica No.1. Dispersión intrarrangos de actividad antioxidante total (a), contenido de fenoles totales (b) y contenido de vitamina C (c). Cada valor se muestra como un punto



* Jugos con aditivos

No se muestra el IC₅₀ del jugo de manzana natural (> 2000 ul)

IV. DISCUSION DE RESULTADOS

En el presente estudio se determinó la actividad antioxidante de los jugos de frutas disponibles en supermercados del área metropolitana de la Ciudad de Guatemala. Se incluyeron 28 jugos de fruta elaborados a partir de concentrados o jugos de fruta naturales, cuya fecha de vencimiento era mayor de tres días, con un tipo de empaque sólido. Las muestras analizadas incluyeron jugos de cinco diferentes sabores: 14 de naranja, 4 de uva, 4 de toronja, 2 de piña y 4 de manzana. Estos se colectaron de 6 establecimientos de conveniencia (supermercados), ubicados en tres diferentes zonas del área metropolitana, a donde asisten personas de distinta capacidad aparente de consumo.

Los métodos de determinación de actividad antioxidante total y determinación de fenoles totales utilizados en esta investigación fueron estandarizados por Caballeros, quien optimizó los métodos de DPPH y Folin-Ciocalteu; mientras que el método de determinación de vitamina C se utilizó en la investigación de Barahona y colaboradores (5, 6). Estos métodos han demostrado confiabilidad y sensibilidad en las mismas condiciones que las empleadas en esta investigación. Por la naturaleza de las muestras, se introdujo una pequeña variación consistente en la centrifugación de los jugos previamente a su análisis, con lo que se evitó la turbidez y sedimentación.

La variedad de sabores y marcas, y el número de muestras de cada uno no permitió la presentación de resultados para cada sabor y marca; se decidió agrupar los datos de cada sabor, separando aquellos en los que no se indica el uso de aditivos *-naturales-* y aquellos en los que sí se utiliza *-con aditivos-*.

Con información del etiquetado, se estableció que los aditivos más utilizados fueron: ácido cítrico, ácido ascórbico, vitamina C, sorbato de potasio, β -caroteno y benzoato de sodio, entre otros; el de naranja tenía una combinación de hasta cuatro diferentes aditivos y el resto tiene uno o dos aditivos.

El jugo de naranja natural fue el que presentó mayor actividad antioxidante total (12 μ l); el jugo con menor actividad antioxidante total fue el jugo de manzana natural (>2,000 μ l). Este valor estimado de IC₅₀ del jugo de manzana podría deberse a los procesos de autooxidación que sufre la manzana al ser manipulada, lo que evidenció por el pardeamiento que sufre esta fruta. Los rangos de actividad antioxidante total del jugo de naranja natural fueron bastante estrechos (11 – 13 μ l), al igual el rango para

el jugo de uva con aditivos (16 – 17 μ l). En cuanto a fenoles totales, el que presentó mayor cantidad fue el de uva con aditivos (1,467 μ g Eq de Ac. Gal. / ml).

Estudios realizados por Caballeros, indicaron que la uva fue uno de los frutos que mayor cantidad de fenoles tiene (34). El jugo que menor cantidad de fenoles presentó fue el de manzana natural (106 μ g Eq de Ac. Gal. / ml). La vitamina C se encontró abundante en el jugo de naranja natural (922 mg/L), no observándose lo mismo con el de manzana y uva los cuales presentaron valores muy por debajo de los demás valores (9-20 y 16- 31 mg/L, respectivamente) lo anterior se puede explicar ya que la naranja fue el único obtenido a partir de cítricos en esta muestra de jugos. Los jugos de frutas, a excepción del jugo de naranja natural y el jugo de toronja, presentaron niveles muy bajos de vitamina C probablemente porque la vitamina ya ha sido oxidada; es por ello que la mayoría de jugos obtenidos industrialmente son enriquecidos con este tipo de antioxidante que sirve no solo para enriquecer sino también como estabilizante (7). Debido a lo anterior, en la medición de vitamina C se prepararon y analizaron soluciones patrón de mayor concentración a las utilizadas en investigaciones anteriores (6).

Los intervalos de confianza calculados para los jugos de fruta en general (ver tabla No. 2), fueron muy amplios para los fenoles totales y vitamina C, esto puede explicarse por el hecho de que el análisis se realizó con jugos tanto con aditivos como naturales. En esta variabilidad también entran en juego otros factores que el investigador no puede controlar, por ejemplo el hecho de que procedían de diferentes frutas así como de diferentes procesos de elaboración de acuerdo a cada marca analizada. Se debe considerar además, que en el caso del jugo de naranja natural es el único cítrico en el grupo de jugos naturales. Los jugos naturales presentaron un intervalo de confianza muy amplio en la determinación de vitamina C, probablemente debido a que esta vitamina es oxidada durante el procedimiento de elaboración y tiempo de almacenamiento (7).

En general, el jugo de naranja natural fue mejor que el resto de jugos con relación a la actividad antioxidante en los tres parámetros determinados, siguiendo los jugos con aditivos los cuales también mantuvieron cierta capacidad antioxidante.

Con base en los resultados obtenidos en este estudio, se puede inferir que la capacidad antioxidante total que recibirá una persona al ingerir un vaso de jugo de naranja natural (250 ml) es equivalente a la que

obtendría si bebe cuatro vasos de jugo de piña con aditivos (1,000 ml). En el caso del jugo de manzana natural, del cual no se pudo determinar su valor de IC_{50} ($>2,000 \mu l$), sería necesario consumir más de 168 vasos para obtener una cantidad equivalente de antioxidantes.

Los aditivos consignados en los jugos analizados en esta investigación, deben de cumplir con la norma COGUANOR 34 192 la cual indica que los aditivos utilizados se pueden emplear para conservar la calidad nutricional del alimento, aumentar la calidad de conservación o estabilidad de un alimento y proporcionar ingredientes o constituyentes a los alimentos. Algunos aditivos presentes en los jugos tienen diferentes funciones actuando como conservadores (benzoato y sorbato de potasio), surfactantes (ácido cítrico), antioxidantes (ácido ascórbico, ácido cítrico) y colorantes (β -caroteno). Estos aditivos no pueden exceder ciertas concentraciones ya que pueden causar efectos adversos, tal es el caso de los surfactantes, los cuales en concentraciones arriba de las permitidas puede causar efecto laxante. La mayoría de conservadores utilizados en la industria son derivados o pueden formarse a partir de compuestos fenólicos, debido a lo anterior los jugos con aditivos tienden a tener mayor cantidad de fenoles que los jugos naturales (7).

También se deben mencionar las ventajas y desventajas que tienen los jugos analizados con respecto a otros factores. Uno de ellos es la disponibilidad y el precio de los jugos; siendo el jugo de naranja con aditivos el que se encuentra más disponible en el mercado, mientras que el jugo natural del mismo sabor no se encuentra disponible en la mayoría de lugares, posiblemente por su reducida vida de anaquel y porque su precio es tres veces y media (3.5) más alto que los jugos del mismo sabor que contienen aditivos. En el caso de los demás jugos con aditivos se observó que presentan mejor capacidad antioxidante total sobre todo en el de uva, el cual presenta elevada cantidad de fenoles totales y su vida de anaquel es más larga que la de naranja natural, por lo que su consumo no se ve restringido. La temperatura de almacenamiento podría ser otro factor muy importante ya que la mayoría de jugos con aditivos no necesitan refrigeración y los naturales si.

En general este trabajo demostró las propiedades antioxidantes de los jugos de fruta producidos industrialmente; de estos, los jugos de naranja con aditivos y natural presentaron los mayores valores, por lo que representan una buena alternativa para la obtención de sustancias antioxidantes por medio de productos alimenticios que forman parte de la dieta

de un sector considerable de la población. Estos se encuentran disponibles permanentemente en el mercado y tienen un precio accesible, por el contrario, algunas frutas sólo están disponibles en ciertas épocas del año.

V. CONCLUSIONES

En conclusión el jugo que mayor actividad antioxidante total presentó fue el de naranja natural (12 μl) a diferencia del jugo de manzana natural el cual fue el que presentó el valor mínimo de actividad antioxidante total, fenoles totales y vitamina C ($>2,000 \mu l$, 106 μg Eq Acido Gálico /ml) y 9 mg/L respectivamente). El jugo de uva fue el que presentó mayor cantidad de fenoles totales, determinando éste último en su mayoría la actividad antioxidante total del jugo. El contenido de vitamina C fue mayor en aquellos jugos provenientes de cítricos (naranja, toronja y piña). En las condiciones en que se realizó este estudio, la presencia o ausencia de aditivos no influyen en la capacidad antioxidante total.

VI. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar otras investigaciones en las que se incluya un mayor número de muestras, para establecer si existen diferencias en la capacidad antioxidante de jugos de distintos sabores y marcas.

Se recomienda utilizar los resultados de este trabajo en actividades que den a conocer las bondades de los jugos de fruta como fuente de sustancias antioxidantes, con lo que se estará contribuyendo a promover su consumo.

VII. AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se realizó dentro del marco de la Unidad de Investigación y Estudios Integrales sobre Alimentos Autóctonos de la Región –UNIAR-.

Se agradece el apoyo técnico de la Licda. Kenia Caballeros, así como de Paola Calderón, Ingrid Ramírez y Analucía Barahona.

VIII. REFERENCIAS

1. Halliwell B. Antioxidantes. (pp 636-642) En: Ekhard E., Ziegler, Filer LJ Jr. eds. Conocimientos actuales sobre nutrición. 7 ed.

- México: Instituto Internacional de Ciencias de la Vida, 1996. 731p.
2. Elliot J. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Technol.* 1999;53:46-48.
 3. Cervato G *et al.* Antioxidant properties of Orégano (*Origanum vulgare*) leaf extracts. *J. Food Biochem.* 2000;24:453-465.
 4. Rauma A., Mykkänen H. Antioxidant status in vegetarians versus omnivores. *Inter. J. Applied Basic Nutri. Sci.* 2000;16:111-119.
 5. Barahona A *et al.* Actividad Antioxidante de Frutas Autóctonas de Guatemala. Atti-Resumenes. XI Congreso Italo-Latinoamericano Di Etnomedicina “*Alberto Di Capua*”. Roma: 2002;9.
 6. Caballeros K. Optimización de dos métodos para el tamizaje de la actividad antioxidante de extractos vegetales. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2001. 54 p. (pp 17-19)
 7. Comisión de Normas COGUANOR 34 192, Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano. Ministerio de Economía, Guatemala, C.A.