

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

Evaluación de la actividad antioxidante del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) sometido a tratamiento térmico

**Ricardo Mauricio Claudio Pomboza
Jessica Estefanía Nájera Fernández**

Tesis de grado presentada como requisito
para la obtención del Título de Ingeniero en Alimentos

Quito, 15 de mayo de 2012

Universidad San Francisco de Quito
Colegio de Agricultura Alimentos y Nutrición
HOJA DE APROBACION DE TESIS

Título de Tesis : Evaluación de la actividad antioxidante del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) sometido a tratamiento térmico

Ricardo Mauricio Claudio Pomboza
Jessica Estefanía Nájera Fernández

Stalin Santacruz, Ph.D.
Director de tesis

Javier Garrido, MSc.
Coodinador de Ing. en Alimentos

Lucía Ramírez, Ph.D.
Miembro del comité de tesis

Yamila Alvarez, Ph.D.
Miembro del comité de tesis

Michael Koziol, Ph. D..
Decano CAAN

Quito, 15 de mayo del 2012

© Derechos de autor
Ricardo Mauricio Claudio Pomboza
Jessica Estefanía Nájera Fernández
2012

A Dios, porque de él, por él y para él son todas las cosas.

A mi padre por estar pendiente de mí toda la vida.

AGRADECIMIENTO

A la Dra. Catalina Vasco, por su gran apertura y guía en el desarrollo de este estudio al brindar sus conocimientos. A la Dra. Lucía Ramírez por su aporte en el proceso del Diseño Experimental y al Dr. Stalin Santacruz por todo su apoyo.

RESUMEN

Investigaciones anteriores han determinado un contenido alto de compuestos antioxidantes en *V. floribundum*. El presente estudio tiene la finalidad de determinar la actividad antioxidante de esta fruta luego de ser sometida a cocción en agua a diferentes condiciones de tiempo y temperatura. EL mortíño triturado fue sometido a soluciones de etanol y acetona conjuntamente con centrifugación para obtener un extracto rico en antioxidantes. La cuantificación de estos compuestos se realizó aplicando el método TEAC y partiendo de la decoloración del radical ABTS propuesto por Re et al en 1999. Las lecturas espectrofotométricas se midieron a 734 nm. Los resultados obtenidos mostraron un aumento de hasta el 22% de la actividad antioxidante comparada con la muestra fresca. El análisis de varianza (ANOVA) determinó que los tratamientos de cocción, el tiempo y la temperatura, así como su interacción influyen significativamente en la actividad antioxidante de *V. floribundum* ($P < 0.01$). Mediante la prueba de Tukey se definió que los mejores tratamientos fueron 15 min at 90°C, 15 min at 70°C y 30 min at 70°C, por presentar mayores incrementos de la actividad antioxidante.

Palabras clave: *Vaccinium floribundum*, actividad antioxidante, tratamiento térmico

ABSTRACT

The present study is intended to evaluate the effect of cooking at different temperatures and times on the antioxidant activity of *V. floribundum*. A solvent extraction with acetone and ethanol together with centrifugation were used to isolate the antioxidants previous their quantification with spectrophotometric measurements at 734 nm. Results from ANOVA showed that the cooking treatments, the time, the temperature and the interaction between time and temperature were statistically significant on the antioxidant activity of *V. floribundum* ($P < 0.01$). Tukey test showed that the best cooking treatments were 90°C for 15 min, 70°C for 15 min and 70°C for 30 min. Those treatments showed the highest increase of antioxidant activity as an effect of the interaction between the time and the temperature.

Key words: *Vaccinium floribundum*, antioxidant activity, thermal treatment

TABLA DE CONTENIDOS

Tabla de Contenidos	viii
Lista de Figuras	ix
1. Introducción	2
2. Materiales y Metodos	4
2.1. Químicos y estándares	4
2.2. Preparación de la muestra	4
2.3. Tratamiento térmico	4
2.4. Obtención de los extractos	5
2.5. Actividad antioxidante	6
2.6. Generación del radical ABTS•+ y construcción de la curva de calibración con <i>el estándar Trolox</i>	6
2.7. Evaluación de la actividad antioxidante	7
2.8. Diseño experimental y Análisis estadístico	7
3. Resultados y Discusiones	8
4. Conclusiones	11
5. Material de Referencia	13
5.1. Bibliografía	13
5.2. Anexos	17

LISTA DE FIGURAS

Tabla 1. Resultados de la Actividad Antioxidante del mortiño y su porcentaje de variación (muestras sometidas a cocción en agua vs. muestra fresca)	17
Tabla 2. Resumen del análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antioxidante de los tratamientos.	17
Tabla 3. Actividad antioxidante de los tratamientos sometidos a cocción en agua	18
Figura 1. Actividad Antioxidante en los diferentes tratamientos de cocción en agua	18

1. INTRODUCCIÓN

El mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*) es una fruta de la familia de las Ericáceas que crece en forma silvestre en los páramos o zonas húmedas de las montañas de Ecuador y Colombia, entre 1400 y 4350 metros de altura sobre el nivel del mar (Torres, Trujillo y Arahana, 2010). Es un arbusto pequeño que excepcionalmente puede alcanzar 1.5 m de altura. La fruta es una baya esférica azul de menos de 1cm de diámetro (Torres, Trujillo y Arahana, 2010). El fruto de madurez óptima varía entre los 5 y 8 mm de diámetro, es carnoso, de piel lisa y a veces cuenta con una cubierta cerosa (Sanjinés, Ollgaard y Balslev, 2006; Aguilar, Hidalgo y Ulloa, 2009).

No se conoce que existan cultivos comerciales de mortiño. En las zonas altas se pueden observar matas o arbustos de montaña donde la fruta crece de manera silvestre (Sanjinés, Ollgaard y Balslev, 2006). En el Ecuador, el mortiño crece en las provincias del Carchi, Pichincha y Cotopaxi, siendo estas las principales localidades de la Sierra ecuatoriana en proveer este fruto silvestre (Vasco, 2009). El mortiño de los Andes no es muy diferente del *blueberry* nativo de Norte América y por eso la fruta está siendo promocionada a nivel internacional como Andean blueberry (Sanjinés, Ollgaard y Balslev, 2006), gracias a sus características funcionales derivadas de su contenido de antioxidantes que inciden positivamente en organismo humano (Wang, Cao y Prior, 1996; García et al., 2002; Mazza, 2000; Yang et al., 2000; Nakane y Ono, 1990; Middleton, Kandaswami y Theoharides 2000; Knekt et al., 2002; Wang et al., 1999; Arts, 2007; Ciz et al., 2010).

El mortiño es una fruta andina de la cual se han desarrollado pocas aplicaciones para el consumo habitual de las personas (Jiménez-Monreal et al., 2009), por lo que existe una gran gama de productos a explotar. En el Ecuador el consumo de mortiño se limita a los meses de octubre y noviembre cuando se prepara una bebida tradicional llamada colada morada por las festividades del día de los difuntos.

Estudios anteriores han determinado que el mortiño en estado fresco tiene una alta actividad antioxidante (1200mgTrolox/100g de acuerdo a Vasco et al., 2009). Hasta el momento no se han realizado estudios sobre la actividad antioxidante de esta fruta después de haber sido sometida a procesamiento térmico. Tanto la temperatura como el tiempo de cocción pueden afectar las propiedades antioxidantes de las frutas y verduras, ya sea aumentando o disminuyendo esta actividad (Jiménez-Monreal et al., 2009). Hasta la fecha, se ha investigado poco acerca de este fruto andino pero sus propiedades de alto interés la convierten en una especie importante para el desarrollo no sólo a nivel agrícola sino también a nivel industrial (Torres, Trujillo y Arahana, 2010).

El presente estudio tiene como propósito evaluar la actividad antioxidante del mortiño sometido a proceso de cocción en agua a diferentes tiempos y temperaturas y a continuación establecer el mejor tratamiento por cocción que permita obtener la mayor estabilidad de la actividad antioxidante de la fruta.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1. *Químicos y estándares*

ABTS (ácido 2-2'azinobis (6-sulfonato-3-etilbenzotiazolina)), y Trolox (ácido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametil-croman-2-carboxílico) fueron adquiridos de Sigma-Aldrich, St. Louis, MO. Se trabajó con persulfato de potasio, metanol, etanol y acetona grado analítico. Para todos los análisis se empleó agua bidestilada.

2.2. *Preparación de la muestra*

Las bayas de mortiño maduro (1.0 kg, 10.3°Brix) fueron adquiridas entre los meses de octubre y febrero en cuatro mercados diferentes de la ciudad de Quito. Las bayas maduras se seleccionaron de acuerdo a su acidez (% de acidez en ácido cítrico 1.44). El mortiño fue limpiado (remoción de tallos y hojas propias de la planta), lavado y separado en 10 fracciones con un peso aproximado de 100g cada porción. Las bayas fueron colocadas en envases plásticos envueltos en papel aluminio, y posteriormente congeladas a -18°C hasta su utilización.

2.3. *Tratamiento térmico*

Se utilizó una fracción de bayas de mortiño para cada tratamiento. Se pesó aproximadamente 10 gramos de bayas, se adicionaron 50 gramos de agua con el fin de obtener una relación sólido:agua de 1:5. La mezcla se sometió a calentamiento a temperaturas de 70 y 90°C por 15, 30 y 45 minutos mediante el empleo de un baño

de agua. Las bayas de mortiño fueron colocadas en el agua una vez que se alcanzó la temperatura adecuada para cada tratamiento.

Para el tratamiento térmico a 110°C, se utilizó un autoclave (Model No. 1915X, USA). Los tiempos de cocción fueron de 15, 30 y 45 minutos.

2.4. Obtención de los extractos

La obtención de los extractos parte de la acción de triturar el mortiño cocido (tratamientos) o del mortiño crudo (control). Se pesan 2g de mortiño triturado en un vaso de precipitación y se añade poco a poco 20mL de una solución metanol-agua (50:50 v/v) (Vasco et al., 2009; Prior, Wu y Schaich, 2005), homogenizando la mezcla con agitación constante por media hora. Posteriormente, la mezcla se centrifugó a 2000 x g (centrifuga Thermo IEC Centra GP8, USA) por 15 minutos, recuperándose el primer sobrenadante. Al precipitado de la centrifugación se le agregó 20mL de acetona al 99% con agua (70:30 v/v) (Vasco et al., 2009; Santos-Buelga y Williamson, 2003). La mezcla se agitó durante media hora. Posteriormente se centrifugó nuevamente por 15 minutos y se recuperó el segundo sobrenadante. El extracto final está constituido por la mezcla de los dos sobrenadantes obtenidos en ambos procesos de centrifugación. Este extracto se llevó a un balón de 50mL y se aforó con agua destilada. Este procedimiento se ejecutó por triplicado, para cada tratamiento.

2.5. Actividad antioxidante

La actividad antioxidante fue medida en el extracto de las muestras de mortiño como compuestos fenólicos totales por medio del ensayo TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) a partir de la decoloración del radical ABTS propuesto por Re et al., 1999. La actividad antioxidante fue expresada finalmente como equivalentes Trolox (mg Trolox/g muestra).

2.6. Generación del radical ABTS•+ y construcción de la curva de calibración con el estándar Trolox

Se preparó el radical ABTS•+ mediante la reacción acuosa de persulfato de potasio 2,45mM y ABTS 7mM en un balón de vidrio. Se cubrió el balón con papel aluminio y se dejó reposar en la oscuridad por 16 horas a temperatura ambiente de 20°C (Re et al., 1999; Vasco 2009; Bompadre et al., 2004). Esta solución de ABTS•+ es calibrada con etanol antes de su utilización en la cuantificación de la actividad antioxidante. Para esto, se debe diluyó la solución de radical ABTS•+ con etanol hasta obtener una absorbancia de 0.70 (\pm 0.02) a 734nm equilibrada a una temperatura de 30°C (se utilizó espectrofotómetro modelo Thermo Spectronic Genesys 10uv, USA).

Para la construcción de la curva de calibración se colocó en la celda 1mL de la solución de radical ABTS•+ calibrada, se registró la absorbancia, y después se añadió a la celda 10 μ L de cinco soluciones preparadas del estándar Trolox. Se tomó la lectura de absorbancia que arrojó el espectrofotómetro (absorbancia final de cada

una de las cinco mediciones) a 734 nm. La absorbancia se mide frente a un blanco de etanol.

2.7. Evaluación de la actividad antioxidante

Para la muestra control (mortiño crudo) y para los diferentes tratamientos (mortiño cocido), se reemplazó los 10µL de la solución de Trolox por la alícuota obtenida de los extractos de cada tratamiento. Aquí, la absorbancia inicial será tomada al tiempo cero (0 segundos). La absorbancia final es leída a los 6 minutos de haber incorporado los 10 µL de la alícuota de cada tratamiento.

2.8. Diseño experimental y Análisis estadístico

Los tratamientos fueron dispuestos en el diseño de bloques completamente al azar (DBCA) con arreglo factorial de $3^2 + 1$ correspondiente a la combinación de 2 factores con 3 niveles cada uno, más un control. Se realizaron tres repeticiones de cada tratamiento. Los niveles y sus respectivos factores fueron:

Factor A Tiempo (minutos)

Niveles del Factor A: 15, 30 y 45 minutos

Factor B Temperatura (C°)

Niveles del Factor B: 70, 90 y 110°C

La variable de respuesta analizada fue la actividad antioxidante.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa MiniTab versión 15. Para encontrar diferencias significativas se usó el análisis de varianza (ANOVA) y finalmente, como

test de separación de medias se utilizó la prueba de Tukey con nivel de confianza de 99%.

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

Utilizando el método TEAC mediante el ensayo de decoloración del radical ABTS propuesto por Re et al. (1999); se determinó que la actividad antioxidante del control (muestra fresca, sin tratamiento térmico) es de 1200.526 ± 14.271 mgTrolox/100g fruta fresca. Este resultado es similar a lo reportado en estudios anteriores que declaran una actividad antioxidante de 1203 ± 93 mgTrolox/100g fruta fresca (Vasco et al., 2009).

En la **Tabla 1.** se presenta el resultado de la actividad antioxidante del mortiño y el porcentaje de variación de cada uno de los tratamientos con relación a la muestra fresca. Se evidenció un aumento en actividad antioxidante después de someter el mortiño a los tratamientos de cocción, siendo los mayores incrementos en los tratamientos de 90°C por 15 minutos, 70°C por 15 minutos, y 70°C por 30 minutos, con porcentajes de 22.097%, 21.856% y 18.61% respectivamente. El incremento de la actividad antioxidante puede relacionarse con la ruptura de la membrana celular y la inactivación enzimática, entre otras (Morales y Babel, 2002; Jiménez-Monreal et al., 2009; Dewanto et al., 2002; Prior et al., 1998). Sin embargo, desde el punto bibliográfico no está claro cómo cada uno de estos factores influencia el incremento de actividad antioxidante. (Yamaguchi et al., 2001). De acuerdo a Oliveira et al. (2010), la degradación térmica de las antocianinas puede resultar en la formación de

compuestos derivados que también presentan propiedades antioxidantes. Howard et al., (2010) reportaron que la actividad antioxidante puede verse afectada por las temperaturas de almacenamiento posterior al tratamiento de cocción, siendo la congelación o refrigeración las mejores condiciones para conservar la actividad antioxidante de la fruta.

Se evidenció una disminución no significativa de la actividad antioxidante frente al control en los tratamientos de 45 minutos a 70°C y 15 minutos a 110°C, con porcentajes de -1.093% y -3.611% respectivamente. La disminución de la actividad antioxidante puede darse por una degradación de las antocianinas del mortiño.

En la **Tabla 2.** se presenta el resumen del análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antioxidante del mortiño sometido a los diferentes tratamientos térmicos ($P < 0.01$). Se evidenció que no existe diferencia significativa entre los bloques. Esto indica que las repeticiones realizadas fueron precisas; los datos obtenidos fueron reproducibles. Se determinó que existe diferencia significativa entre los tratamientos evaluados. El tiempo y la temperatura afectan la actividad antioxidante de los tratamientos, y su interacción también influye en la actividad antioxidante de los diferentes tratamientos de cocción del mortiño, con $P < 0.01$. Existió una variación significativa en la actividad antioxidante del mortiño y para este estudio, la variación está dada por la cocción en agua a diferentes tiempos y temperaturas, evidenciando así también la influencia de los tratamientos.

La **Tabla 3.** presenta los resultados del test de medias de Tukey. Se encontró que existen diferencias significativas entre los tratamientos térmicos respecto a la actividad antioxidante. Con este antecedente, los mejores tratamientos fueron T2 (15 min - 90°C), T3 (15 min - 70°C) y T5 (30 min - 70°C). Estos tratamientos tuvieron la mayor actividad antioxidante (1465.81mgTrolox/100g, 1462.92mgTrolox/100g, 1423.94mgTrolox/100g de muestra respectivamente), y adicionalmente, fueron estadísticamente iguales.

El estudio reportó también que a temperaturas superiores a ebullición, el tratamiento que ofrece una mayor actividad antioxidante es T7 (30 min - 110°C).

En investigaciones anteriores se ha evidenciado que ningún método refleja verdaderamente la actividad antioxidante total para una muestra en particular pues el método no sólo debe asegurar la determinación de esta variable en los compuestos lipofílicos e hidrofílicos sino que para evaluar la actividad fisiológica de estos compuestos el método también debe abarcar los mecanismos de reacción por transferencia de átomos de hidrógeno y por transferencia de electrones (Prior, Wu y Schaich, 2005). Asimismo, Espín et al., (2007) declaran que los efectos de la actividad antioxidante determinada *in vitro* no puede ser directamente extrapolada a estudios *in vivo*. Es por esta razón que la determinación de la actividad antioxidante está siendo aplicada inicialmente en la evaluación de la interacción entre alimentos y extractos, con las especies reactivas de oxígeno, o en la investigación de posibles fuentes de antioxidantes para incluirse en productos alimenticios o aplicaciones

futuras en la salud (Pérez- Jiménez et al., 2008; Espín et al., 2007; Prior, Wu y Schaich, 2005).

4. CONCLUSIONES

El estudio evaluó la actividad antioxidante del mortiño. En la fruta fresca los resultados son muy similares a los que se han reportado en investigaciones anteriores, validando de esta manera la correcta ejecución del método. La actividad antioxidante determinada en los tratamientos sugiere en general que la estabilidad de esta variable se ve influenciada positivamente por el tiempo y la temperatura de cocción en agua de la fruta. Comparado con lo determinado en el control, este estudio demuestra que la actividad antioxidante del mortiño es diferente y se incrementa por la cocción en agua a diferentes condiciones de tiempo y temperatura. La actividad antioxidante aumenta y que los mejores tratamientos para que se de un incremento significativo son 15 min a 70°C (T2), 15 min a 90°C (T3) y 30 min a 70°C (T5). Considerando que estos tratamientos son estadísticamente iguales, T3 (15 min-70°C) es el mejor tratamiento por ser el que permite un manejo más eficiente de recursos y que puede reproducirse mejor por las condiciones poco exigentes que demanda este tratamiento. Los tratamientos térmicos a temperaturas superiores a las de ebullición en general aseguran una estabilidad de la actividad antioxidante del mortiño, en comparación con la capacidad antioxidante determinada en el tratamiento control (muestra fresca).

Por último, los resultados obtenidos en este estudio no indican una biodisponibilidad de los compuestos antioxidantes del mortiño y los efectos de éstos en el organismo. La actividad antioxidante determinada sólo es indicativa de la estabilidad de las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos y no fenólicos del mortiño durante la cocción. Pese a esto, el conocimiento generado en esta investigación será de soporte para futuras investigaciones relacionadas directamente con los beneficios de la fruta.

5. MATERIAL DE REFERENCIA

5.1. BIBLIOGRAFIA

Aguilar, Zornitza, Pamela Hidalgo y Carmen Ulloa. Guía de Plantas Útiles de los Páramos de Zuleta, Ecuador. Proyecto de Manejo y Aprovechamiento Sustentable de Alpacas en los Páramos de Zuleta. Quito: PPA-EcoCiencia, 2009.

Arts, Mariken. Assessing Antioxidant Activity. Maastricht: Datawyse / Universitaire Pers Maastricht, 2007.

Bompadre, Stefano et al. "Improved FIA-ABTS Method for Antioxidant Capacity Determination in Defferent Biological Samples". Free Radical Research. 38 (Agosto 2004): 831-838.

Ciz, Milan et al. "Different methods for control and comparison of the antioxidant properties of vegetables". Food Control. 21 (2010): 518-523.

Dewanto V, Wu X, Liu RH. "Processed sweet corn has higher antioxidant activity". Journal of Agricultural and Food Chemistry. 17 (2002): 4959-4964.

Espín, J.C., M. T. García-Conesa y F. A. Tomás-Barberán. "Nutraceuticals: Facts and fiction". Phytochemistry. 68 (2007): 2986-3008.

García, Alonso et al. "Evaluación de las propiedades antioxidantes en concentrados de uva y frutas rojas". Anales de Veterinaria de Murcia. 18 (2002): 103-114.

Howard, Luke R. et al. "Jam Processing and Storage Effects on Blueberry Polyphenolics and Antioxidant Capacity". Journal of Agricultural and Food Chemistry. 58 (2010): 4022-4029.

Jiménez-Monreal, A. M. et al. "Influence of Cooking Methods on Antioxidant Activity of Vegetables". Journal of Food Science: Health, Nutrition, and Food. 74 (2009): H97-H103.

- Knekt, Paul et al. "Flavonoid intake and risk of chronic diseases". American Society for Clinical Nutrition. 76 (2002): 560-568.
- Mazza, G. Alimentos Funcionales: Aspectos bioquímicos y de procesado. Trad. Héctor J. Quiñones Tapia. Zaragoza: Editorial Acribia S.A., 2000.
- Middleton, Elliott, Chithan Kandaswami y Theoharis C. Theoharides. "The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implication for Inflammation, Heart Disease, and Cancer". Pharmacological Reviews. 52 (2000): 673-751.
- Morales, Francisco y Maj-Britt Babbel. "Antiradical Efficiency of Maillard Reaction Mixtures in a Hydrophilic Media". Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50 (2002): 2788-2792.
- Nakane, H y K. Ono. "Differential inhibitory effects of some catechin derivatives on the activities of human immunodeficiency virus reverse transcriptase and cellular deoxyribonucleic and ribonucleic acid polymerases". Biochemistry. 11 (1990): 2841-2845.
- Oliveira, Carla et al. "Cooked Blueberries: Anthocyanin and Anthocyanidin Degradation and Their Radical-Scavenging Activity". Journal of Agricultural and Food Chemistry. 58 (2010): 9006-9012.
- Pérez-Jiménez, J. et al. "Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results". Food Research International. 41(2008): 274-285.
- Prior, Ronald L. et al. "Antioxidant Capacity As Influenced by Total Phenolic and Anthocyanin Content, Maturity, and Variety of Vaccinium Species". Journal of Agricultural and Food Chemistry. 46 (1998): 2686-2693.
- Prior, Ronald, Xianli Wu y Karen Schaich. "Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary

- Supplements". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 (2005): 4290-4302.
- Re, Roberta, et al. "Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay". *Free Radical Biology & Medicine*. 26 (1999): 1231-1237.
- Sanjinés Asturizaga, Adriana, Benjamin Øllgaard y Henrik Balslev. "Frutos comestibles". *Botánica Económica de los Andes Centrales*. (2006): 329-346.
- Santos-Buelga, Celestino y Gary Williamson. *Methods in polyphenol analysis*. Gran Bretaña: Royal Society of Chemistry, 2003.
- Torres, María de Lourdes, Diana Trujillo y Venancio Arahana. "Cultivo in vitro del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)". *Avances en Ciencias e Ingenierías*. 2 (2010): B9-B15.
- Vasco, Catalina et al. "Chemical Composition and Phenolic Compound Profile of Mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57 (2009): 8274-828.
- Vasco, Catalina. "Phenolic Compounds in Ecuadorian Fruits". Doctoral Thesis. Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences. Department of Food Science. Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala, 2009.
- Wang, Hong, Guohua Cao y Ronald L. Prior. "Total Antioxidant capacity of Fruits". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44 (1996): 701-705.
- Wang, Haibo et al. "Antioxidant and Antiinflammatory Activities of Anthocyanins and Their Aglycon, Cyanidin, from Tart Cherries". *Journal of Natural Products*. 62 (1999): 294-296.
- Yamaguchi T., Mizobuchi T. et al. "Radical scavenging activity of vegetables and the effect of cooking on their activity". *Food Science and Technology Research*. 7 (2001): 250–257.

Yang, Kan. et al, "Chemoprevention studies of the flavonoids quercetin and rutin in normal and azoxymethane-treated mouse colon". *Carcinogenesis*. 21 (2000): 1655-1660.

5.2. ANEXOS

Tabla 1. Resultados de la Actividad Antioxidante del mortiño y su porcentaje de variación (muestras sometidas a cocción en agua vs. muestra fresca)

Actividad Antioxidante (mg Trolox/100g fruta)						
Tiempo	Temperatura					
	70°C	%	90°C	%	110°C	%
15 min	1462.917±2.243 (T2)	21.856	1465.809±12.252 (T3)	22.097	1157.172±29.221 (T4)	-3.611
30 min	1423.938±9.164 (T5)	18.61	1284.351±19.437 (T6)	6.982	1309.315±2.585 (T7)	9.062
45 min	1187.399±14.637 (T8)	-1.093	1242.232±10.109 (T9)	3.474	1272.489±6.613 (T10)	5.994
Control (muestra cruda)	1200.526±14.271 (T1)					

Tabla 2. Resumen del análisis de varianza (ANOVA) de la actividad antioxidante de los tratamientos.

FV	gl	SC	CM	Fc	Ft 0,01
Total	29	354455.756	---	---	---
Bloques	2	21.829	10.915	0.048 ^{NS}	6.01
Tratamientos	9	350373.164	38930.352	172.565**	3.60
tiempo (t)	2	83826.110	41913.055	185.787**	6.01
Temperatura (T)	2	61110.980	30555.490	135.442**	6.01
Interacción t x T	4	172043.360	43010.840	190.653**	4.58
Interacción					
Tratamientos x control	1	33392.719	33392.719	148.019**	8.28
Error Experimental	18	4060.763	225.598	---	---

**Significativo al 1% de probabilidad por la prueba F.

Tabla 3. Actividad antioxidante de los tratamientos sometidos a cocción en agua

Tratamiento	Actividad antioxidante (mg Trolox/100g muestra)	
T3	1465.809	a
T2	1462.917	a
T5	1423.938	a
T7	1309.315	b
T6	1284.351	bc
T10	1272.489	bc
T9	1242.232	cd
T1	1200.526	de
T8	1187.399	e
T4	1157.172	e

Medias seguidas por la misma letra no difieren entre sí al 1% ($P < 0.01$) por la prueba de Tukey

Figura 1. Actividad Antioxidante en los diferentes tratamientos de cocción en agua