

UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA Y BIOMÉDICA

TÍTULO DE INGENIERO EN ALIMENTOS

Evaluación del perfil aromático del tomate de árbol (*Solanum betaceum*) variedad amarilla por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.

TRABAJO DE TITULACIÓN.

AUTOR: Yaguana Tapia, Lenin Eduardo

DIRECTOR: Figueroa Hurtado, Jorge Geovanny, Mgtr.

LOJA-ECUADOR 2018



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, Yaguana Tapia Lenin Eduardo declaro ser autor del presente trabajo de titulación:

Evaluación de perfil aromático del tomate de árbol (Solanum betaceum) variedad amarilla por

cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas, de la Titulación de Ingeniería

en Alimentos, siendo el Mgtr. Jorge Geovanny Figueroa Hurtado, director del presente trabajo;

y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes

legales de posibles reclamos o acciones legales. Además, certifico que las ideas, conceptos,

procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva

responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 88 del Estatuto Orgánico de

la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice:

"Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones,

trabajos científicos o técnicos y tesis de grado o trabajos de titulación que se realicen con el

apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad"

f:

Autor: Yaguana Tapia Lenin Eduardo

Cédula: 1104558760

iii

DEDICATORIA

Con todo el aprecio de mi ser, el siguiente trabajo va dedicado a mis padres, por su incondicional apoyo y esfuerzo, quienes con su ejemplo me impulsaron a no desfallecer en mi camino, en esta dura carrera llamada vida que es limitada por su tiempo, también agradezco a todos mis amigos, compañeros y familiares que de una u otra forma me supieron apoyar.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primero a Dios por ser la razón principal de la vida y sus maravillas.

Mis agradecimientos más fervientes para mi madre Doris Karina Tapia Tinizaray y a mi padre Franklin Augusto Yaguana Hurtado quienes me supieron formar y apoyar en todo momento e incluso en los momentos de rebeldía.

Agradezco al Magister Geovanny Figueroa por considerarme como su tesista, su instrucción plena y dedicada, además de su paciencia para el desarrollo del trabajo de titulación.

Agradezco a mis amigos y compañeros de la carrera que forman una gran historia en mi vida universitaria.

Finalmente a la UTPL y sus docentes que han contribuido en mi formación a lo largo de mi carrera.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

| API | ROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN | II |
|-----|---|------|
| DE | CLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS | |
| DEI | DICATORIA | IV |
| AG | RADECIMIENTOS | V |
| ÍND | DICE DE CONTENIDOS | VI |
| ÍND | DICE DE TABLAS | VIII |
| ÍND | DICE DE FIGURAS | IX |
| ÍND | DICE DE ECUACIONES | X |
| ÍND | DICE DE ANEXOS | XI |
| LIS | TA DE ABREVIATURAS | XII |
| RE | SUMEN | 1 |
| ABS | STRACT | 2 |
| INT | RODUCCIÓN | 3 |
| 1 | CAPÍTULO I REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA | 4 |
| 1.1 | Origen y producción a nivel mundial | 5 |
| 1.2 | • | |
| 1.3 | · | |
| 1.4 | · | |
| 1.5 | Antioxidantes | 7 |
| 2 | CAPÍTULO II OBJETIVOS | 9 |
| 2.1 | Objetivo general | 10 |
| 2.2 | Objetivos específicos | 10 |
| 3 | CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS | 11 |
| 3.1 | Muestras | 12 |

| 3.2 | Re | activos | . 12 |
|------|-------|---|------|
| 3.3 | Ca | racterización física – química | . 12 |
| 3.4 | Co | mpuestos volátiles | . 16 |
| 3. | 4.1 | Extracción de compuestos volátiles mediante SPME. | . 16 |
| 3. | 4.2 | Identificación de compuestos volátiles | . 17 |
| 3.5 | Ant | ioxidantes | . 18 |
| 3. | 5.1 | Extracción de antioxidantes | . 18 |
| 3. | 5.2 | Cuantificación de antioxidantes y fenoles totales | . 18 |
| 3.6 | Ana | álisis estadístico | . 18 |
| 4 | CAPÍ | TULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN | . 19 |
| 4.1 | Ca | racterización de la materia prima | . 20 |
| 4.2 | Co | mpuestos volátiles | . 22 |
| 4.3 | Act | ividad antioxidante | . 27 |
| CON | NCLU: | SIONES | . 30 |
| REC | OME | NDACIONES | . 31 |
| BIBL | _IOGF | RAFÍA | . 32 |
| ANE | XOS. | | . 35 |

ÍNDICE DE TABLAS

| Tabla 1 Genotipos de tomate de árbol cultivados en Ecuador | 5 |
|--|----|
| Tabla 2 Características físicas del fruto | 20 |
| Tabla 3 Características químicas del fruto | 21 |
| Tabla 4 Compuestos identificados y cantidad relativa del tomate de árbol | 24 |
| Tabla 5 - Resultados de antioxidantes | 27 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura 1 Proceso de extracción de compuestos volátiles | 7 |
|--|----|
| Figura 2 Variedades de tomate de árbol estudiadas | 12 |
| Figura 3 Cartas de color | 13 |
| Figura 4 Determinación de la dureza | 13 |
| Figura 5 Determinación de la longitud | 14 |
| Figura 6 Determinación de acidez | 14 |
| Figura 7 Determinación de pH | 15 |
| Figura 8 Determinación de los sólidos solubles | 15 |
| Figura 9 Adsorción y desorción de volátiles | 16 |
| Figura 10 Equipo GC-MS | 17 |
| Figura 11 Cromatogramas del perfil de compuestos volátiles del tomate de árbol | 26 |
| Figura 12 - Relación de la cuantificación de antioxidantes | 29 |

ÍNDICE DE ECUACIONES

| Ecuación 1 Contenido de pulpa en fruta | 13 |
|---|----|
| Ecuación 2 Cálculo de acidez | 14 |
| Ecuación 3 Índice de madurez | 15 |
| Ecuación 4 Cálculo de humedad | 16 |
| Ecuación 5 Ecuación para calcular el índice de Kovats | 17 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| Anexo 1 Cálculo del índice de Kovats | 36 |
|--|----|
| Anexo 2 Cálculo para la determinar la actividad antioxidante | 37 |
| Anexo 3 Análisis estadístico de los compuestos volátiles | 38 |
| Anexo 4 Análisis estadístico de las características químicas | 40 |
| Anexo 5 Análisis estadístico de antioxidantes | 42 |

LISTA DE ABREVIATURAS

GC-MS: Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas

DVB/CAR/PDMS: Divinil-benceno/carboxeno/polidimetil-siloxano

IK: Índice de Kovats experimental

IK': Índice de Kovats referencial

QM: Índice de similitud

SPME: Microextracción en fase sólida

SS: Sólidos solubles

Tr: Tiempo de retención

ABTS Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonico

FRAP Poder antioxidante reductor del hierro

DPPH 2,2-difenil-1-picrilhidracilo

FT Fenoles totales

TPTZ 2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina

Trolox Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxílico

NIST Instituto Nacional de Estándares y Tecnología

EAG Equivalente de ácido gálico

HPLC Cromatografía líquida de alta eficacia

HPLC-DAD-MS Cromatografía líquida de alta eficacia con detección de diodos

acoplado a espectrometría de masas

RESUMEN

En la presente investigación se evaluó el perfil aromático de las variedades amarillo, anaranjado y morado de tomate de árbol. La extracción de los compuestos volátiles se realizó mediante SPME. La identificación de los analitos se llevó a cabo por GC-MS. Entre las tres variedades se logró identificar 32 compuestos pertenecientes a 5 familias químicas. El grupo éster presentó la mayor abundancia relativa con un 43.75 %, seguido de los terpenoides con un 28.13 %. Pese a que la mayoría de compuestos volátiles se encuentran presentes en los tres perfiles, estos varían por su abundancia relativa y por la presencia de 1 ó 3 compuestos. Además, se determinó la actividad antioxidante y contenido fenólico, la variedad morada presentó el mayor contenido de fenoles totales 23 ± 0.11 mg EAG/100g y actividad antioxidante con valores de 1.8 ± 0.01, 2.8 ± 0.01 y 2.4 ± 0.01 µmol ET/g (base fresca), medidos con las técnicas ABTS, DPPH y FRAP, respectivamente. El contenido fenólico de la variedad morado fue superior cuatro y doce veces comparado con las variedades amarillo y anaranjado, respectivamente.

Palabras claves: Tomate de árbol, compuestos volátiles, SPME, GC-MS, actividad antioxidante, fenoles totales

ABSTRACT

In the present investigation the aromatic profile of the yellow, orange and purple varieties of tomato tree was evaluated. The extraction of the volatile compounds was carried out by Solid Phase Micro Extraction (SPME). The identification of the analytes was performer by a gas chromatography mass spectrometry (GC-MS). Among the three varieties, 32 compounds belonging to 5 chemical families were identified. The ester group had the highest relative abundance with 43.75 %, followed by the terpenoids with 28.13 %. Although the majority of volatile compounds are present in the three tree tomato profiles, these vary by their relative abundance and also differ by the presence of 1 or 3 compounds. In addition, the antioxidant activity and total phenolic content (TPC) were determined. The purple variety showed the highest TPC 23 \pm 0.11 mg EAG/100g and antioxidant activity measures by ABTS, DPPH and FRAP methods with values of 1.8 \pm 0.01, 2.8 \pm 0.01 and 2.4 \pm 0.01 μ mol ET/g, respectively. The TPC of the purple variety was superior four and twelve times compared to the yellow and orange varieties, respectively.

Keywords: Tree tomato, volatile compounds, SPME, GC-MS, antioxidant activity, total phenols.

INTRODUCCIÓN

En el presente trabajo se realizó la identificación de compuestos volátiles y cuantificación de la actividad antioxidante de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.), en las variedades amarillo, anaranjado y morado. Este fruto es conocido en el extranjero como tamarillo. Esta fruta exótica tiene un gran perfil nutricional, además crece en toda la región Andina por su clima fresco y templado (Acosta Q, Martínez L, & Prohens, 2011; Bolaños, Cruz, & Caicedo Vargas, 2008).

Existe limitada información científica sobre los compuestos volátiles del tomate de árbol. Las pocas investigaciones realizadas se han desarrollado con temperaturas elevadas y/o con el uso de solventes orgánicos (Durant et al., 2013; Torrado et al., 1995; Wong & Wong, 1997), en este sentido, estas condiciones pueden provocar reacciones volátiles de degradación y pirólisis avanzada, contribuyendo en la generación de compuestos (Diaz-Maroto, Pérez-Coello, & Cabezudo, 2002; Van Krevelen, 1975).

Respecto a la actividad antioxidante se han encontrado resultados en las tres variedades de tomate árbol (Acosta Q et al., 2015; Espin et al., 2016; Vasco, Ruales, & Kamal-Eldin, 2008). Sin embargo, esos resultados encontrados son mayores a los reportados en esta investigación.

Este documento se desarrolló en cuatro capítulos, el primer capítulo se basa en la revisión bibliográfica sobre el tomate de árbol. En el segundo y tercer capítulo están expuestos los objetivos planteados y las metodologías utilizadas, respectivamente. En el cuarto capítulo, se discuten los resultados obtenidos. Finalmente se incluyen las conclusiones del trabajo y recomendaciones para futuros estudios.

La metodología que se utilizó para la identificación de compuestos volátiles, se basa en la concentración de los analitos de interés en el espacio de cabeza, a continuación estos son absorbidos por una fibra de micro-extracción y es inyectada al cromatógrafo de gas acoplado a espectrometría de masas para su identificación. Para determinar la actividad antioxidante se realizaron extractos mediante maceración dinámica, para luego cuantificarlos por métodos cromogénicos.

En esta investigación se identificaron 32 compuestos volátiles, los ésteres (43.75 %) fueron la familia mayoritaria. Respecto a la actividad antioxidante, la variedad morado presentó una concentración cuatro veces mayor que las otras variedades estudiadas.

1 CAPÍTULO I REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 Origen y producción a nivel mundial

El tomate de árbol o tamarillo (*Solanum betaceum* (Cav.) Sendt) es una fruta sub-tropical nativa de la región Andina específicamente de Bolivia (Acosta Q et al., 2011). Ecuador cultiva aproximadamente 15 mil hectáreas, siendo Tungurahua la provincia que aporta con más del 50 % del total de su producción anual, este representa un sustento económico para los pequeños agricultores, quienes trabajan menos de una hectárea de terreno con un rendimiento de 4.000 toneladas por año (INEC, 2012).

1.2 Variedades que existen y detalles de la variedad estudiada

El tomate de árbol, mide alrededor de 8 cm de largo y 5 cm de diámetro, el fruto está cubierto por una gruesa cáscara de varios colores según sea su variedad y de sabor extrínseco ácido, del mismo modo, en su interior contiene pulpa, donde su color varía desde amarillo, anaranjado y rojo; la cual protege a sus semillas (Lucas Uquillas, Chang, José, & Maggi Tenorio, 2010). A continuación (Tabla 1) se exponen varios genotipos de tomate de árbol que se cultivan en el país (Revelo, Pérez, & Maila, 2004).

Tabla 1.- Genotipos de tomate de árbol cultivados en Ecuador.

| Nombre | Forma | Color cáscara | Color pulpa |
|------------------------------------|----------|-------------------|---------------------|
| Amarillo (Gold-mine) | Ovoide | Amarillo | Anaranjado claro |
| Negro | Ovoide | Púrpura | Anaranjado- púrpura |
| Redondo (Golden-yellow) | Elíptico | Anaranjado claro | Anaranjado claro |
| Puntón (Común) | Ovoide | Anaranjado oscuro | Anaranjado claro |
| Rojo | Ovoide | Rojo oscuro | Anaranjado medio |
| Amarillo Gigante (Yellow-giant) | Ovoide | Anaranjado claro | Anaranjado claro |
| Morado (Purple-red) | Ovoide | Morado | Anaranjado- púrpura |

Fuente: Revelo et al. (2004)
Elaboración: El autor.

1.3 Importancia en la industria alimentaria

La novedad del presente trabajo es la caracterización del perfil aromático de tres tipos de tomate de árbol (amarillo, anaranjado y morado) y el estudio de la actividad antioxidante que estos contienen, debido a la escasa información disponible, con este trabajo se pretende generar recursos bibliográficos que se puedan aprovechar en la industria de alimentos como la utilización de esencias para lácteos (helados), repostería o panificadoras (pasteles) y confiterías (dulces).

En la actualidad el tomate de árbol tiene varias alternativas agroindustriales, el procesamiento es mayoritario en el extranjero con una amplia gama de productos tales como: fruta deshidratada, congelada, en licores, postres, mermeladas, jaleas y conservas en almíbar; en el Ecuador se está produciendo de igual manera conservas, purés y pulpa de tomate congelada para suministrar al exterior (Bolaños et al., 2008).

El tomate de árbol es una fruta muy importante en la seguridad e industria alimentaria, según la FAO esta fruta contiene componentes bio-activos y propiedades nutricionales como: altos contenidos de vitaminas y bajos niveles de azúcares (fructosa, glucosa y sacarosa) (Calle & Camacho, 2008; Morón, 1999; Paltrinieri & Figuerola, 1998).

1.4 Compuestos volátiles.

El olor es un factor que en la actualidad se busca identificar a través nuevas de tecnologías. Dentro de los métodos de extracción de componentes volátiles más conocidos tenemos: la extracción con disolventes por la recuperación de los componentes volátiles, en el que se debe tomar en cuenta el tipo de disolvente y la solubilidad de los solutos, este tipo de metodología es muy costosa y elaborada para aplicarse en la separación de compuestos volátiles presentes en alimentos (Del Valle & Aguilera, 1999; Suzanne Nielsen, 2003). Otro método es la destilación de cabeza que emplea la ebullición sobre un montaje para concentrar y condensar los compuestos volátiles en un matraz lateral y el disolvente extractante en otro. Otra posibilidad es la extracción en condiciones supercríticas donde se manejan combinaciones de presión y temperatura (iguales o superiores a las críticas) (Figueroa & Vargas, 2016). Uno de los métodos más utilizados es la micro-extracción en fase sólida (SPME), este es un procedimiento sencillo, que se fundamenta en el uso de una fibra que tiene un filamento de sílice fundida cubierta por un material de empaque (polar, apolar o bipolar), que tiene la propiedad de adsorber o absorber compuestos volátiles (Harborne, 1998).

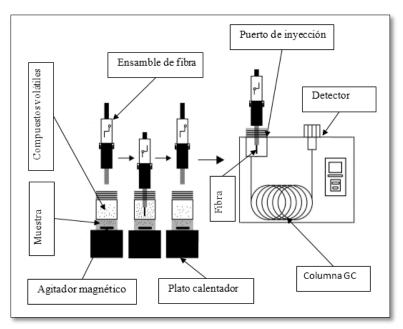


Figura 1.- Proceso de extracción de compuestos volátiles

Fuente: El autor. Elaboración: El autor.

Entre los estudios previos que caracterizan el perfil aromático del tomate de árbol tenemos: Durant et al. (2013) identificaron 58 constituyentes volátiles los que en su mayoría fueron: terpenoides, ésteres y aldehídos. Torrado et al. (1995) lograron identificar 46 componentes y sus principales analitos fueron: hexanoato de metilo, (E)-2-hexanol, (Z)-3-hexenol, eugenol y 4-alil-2, 6-dimetoxifenol, por otra parte Wong y Wong (1997) identificaron 49 analitos, siendo los principales: (Z)-3-hexanol 26.6 %, butirato de etilo 14.8 %, butirato de metilo 12.0 % y hexanoato de metilo 8.6 %. Estos estudios se desarrollaron utilizando temperaturas superiores de extracción y destilación con solventes para extraer los analitos, estas condiciones pueden provocar reacciones volátiles de degradación y pirólisis avanzada, contribuyendo la generación de compuestos (Diaz-Maroto et al., 2002; Van Krevelen, 1975).

En la presente investigación se utilizó la micro-extracción en fase sólida y cromatografía de gas acoplado a espectrometría de masas (Figura 1) por las numerosas ventajas frente a las otras metodologías de extracción de volátiles, entre las que sobresalen: reducción del consumo del disolvente, rapidez, mayor precisión y exactitud, y que el proceso se puede automatizar (de Fatima Alpendurada, 2000; Skoog, Holler, & Timothy, 2001; Suzanne Nielsen, 2003).

1.5 Antioxidantes.

Debido al aporte que representan los antioxidantes en los alimentos se han desarrollado estudios enfocados a evaluar la actividad antioxidante ya que impiden la formación de

radicales libres, se conoce que el consumo de antioxidantes genera un beneficio en la salud revelando una reducción en la incidencia de enfermedades, padecimientos circulatorios, cancerígenos, cardiovasculares, neurológicos (Alonso, Salucci, Lázaro, Malani, & Ferro-Luzzi, 1999; de Rosso & Mercadante, 2007; Medina, 2010; Vilaplana, 2007).

Existen pocos estudios realizados sobre la actividad antioxidante del tomate de árbol, Mertz et al. (2009) analizaron mediante HPLC los componentes mayoritarios (fenólicos y carotenoides) en la pulpa de dos variedades de tomate de árbol (rojo y amarillo) donde se obtuvieron pelargonidin rutinósido y delfinidin rutinósido como las dos principales antocianinas de la variedad roja.

Vasco et al. (2008) determinaron la actividad antioxidante de dos variedades de tomate de árbol (morado y amarillo), usando tres diferentes métodos (DPPH, FRAP y ABTS); como resultado final reportó altas cantidades de compuestos fenólicos superiores a $2.6 \pm 0.4 \mu mol$ Trolox/g (base húmeda) en ambas variedades. En cambio Espin et al. (2016) realizaron un estudio reportando valores inferiores de compuestos fenólicos menores a $70 \pm 0.8 \mu mol$ Trolox/g (base seca) para las variedades morado y amarillo.

En otro estudio previo Acosta Q et al. (2015), estimaron la actividad antioxidante en 5 diferentes variedades (amarillo, anaranjado, rojo, morado y una silvestre) pero se desarrolló sólo con un método cromogénico, debido a que el contenido total de antioxidantes en los alimentos está constituida por interacciones sinérgicas de varios compuestos, es preciso combinar más de un método para deducir de manera correcta la actividad antioxidante, por este motivo se calcula la actividad antioxidante de alimentos apoyados en diferentes aspectos, como en calcular la capacidad de estabilización de radicales libres (DPPH), la actividad antioxidante de sustancias lipofílicas e hidrófilas (ABTS), y en el poder antioxidante reductor del hierro (FRAP) (Maria do Socorro et al., 2010).

2 CAPÍTULO II OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Evaluación del perfil aromático del tomate de árbol en las variedades amarillo, anaranjado y morado (*Solanum betaceum*) y evaluación de su actividad antioxidante.

2.2 Objetivos específicos

- Extraer los componentes volátiles mediante SPME e identificarlos por cromatografía de gas acoplado a espectrometría de masas.
- Determinar la actividad antioxidante y contenido fenólico de las tres variedades de tomate de árbol.

3 CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Muestras

En el presente estudio se trabajó con tomate de árbol (*Solanum betaceum* (Cav.). Las variedades que se utilizaron fueron tomate anaranjado redondo, amarillo gigante y morado (Figura 2). Por su nombre en inglés también se las conoce como golden-yellow, yellow-giant y purple-red, respectivamente, estas fueron adquiridas en el mercado de la ciudad de Loja.

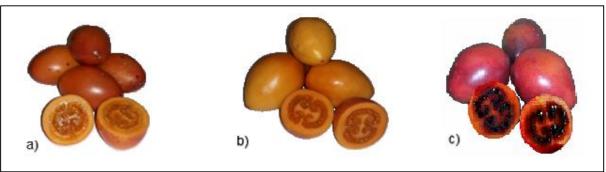


Figura 2.- Variedades de tomate de árbol estudiadas a) Anaranjado redondo, b) Amarillo gigante, c) Morado

Fuente: El autor. Elaboración: El autor.

Una parte de la muestra fue triturada para realizar los análisis físico-químicos y la otra parte fue congelada y liofilizada (77540-12, Labconco, E.E.U.U.) para los diferentes análisis de actividad antioxidante.

3.2 Reactivos

Los reactivos utilizados para la extracción de los compuestos volátiles fueron: cloruro de sodio (99.5 %) y los n-alcanos (C8 - C20) fueron suministrados por Merck KGaA (Darmstadt, Alemania). Por otro parte, en la cuantificación de la actividad antioxidante y fenoles totales se utilizaron: ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonico (ABTS) y ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxílico (trolox), 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), Folín-Ciocalteu, ácido gálico y carbonato de sodio que fueron obtenidos desde Merck KGaA (Darmstadt, Alemania).

3.3 Caracterización física – química

El color fue determinado por las cartas de color (Royal Horticultural Society, Reino Unido) de cuatro series codificadas (Figura 3) y colorímetro digital (C-R14, Konika Minolta, Japón), las mediciones se realizaron en tres zonas diferentes.



Figura 3.- Cartas de color Fuente: El autor. Elaboración: El autor.

Se determinó la masa del fruto completo, piel, pulpa y semillas, empleando una balanza digital (PJ 4000, Mettler Toledo, Japón). Además, se calculó la relación de masa de pulpa respecto

al fruto completo de acuerdo a la Ecuación 1 (INEN1909, 2009).

Contenido de pulpa
$$\% = \frac{P \ pulpa \ (g)}{P \ fruta \ (g)} x 100$$

Ecuación 1.- Contenido de pulpa en fruta

La dureza del fruto fue media mediante un penetró-metro (Tipo universal cuadrimensional, Italia) con escala de 0 a 5 kilogramos fuerza (kgf). Brevemente, este método se basa en aplicar una fuerza sobre el tomate de árbol hasta que el bulbo de la punta se introduzca en el fruto (Figura 4).



Figura 4.- Determinación de la dureza

Fuente: El autor. Elaboración: El autor.

El diámetro y la longitud (Figura 5) se evaluaron con un calibrador pie de rey (Cummings Tool, E.E.U.U.) según la norma INEN1909 (2009), los resultados fueron expresados en mm.



Figura 5.- Determinación de la longitud

Fuente: El autor Elaboración: El autor.

La acidez fue cuantificada según el método de la AOAC 942.15 (Horwitz, 2000), empleando un acidímetro digital (DL 15 Titrator, Mettler Toledo, Japón), el cual tiene la función de adicionar a la muestra la cantidad suficiente de solución de hidróxido de sodio (0.02 N) hasta neutralizarla (Figura 6), a continuación se detalla brevemente el procedimiento:

- 1. Pesar 1 g de muestra triturada en el vaso del titulador
- 2. Adicionar 25 mL de agua destilada y colocar el agitador magnético
- 3. Mezclar hasta que toda la muestra se disuelva
- 4. Realizar la valoración

Este procedimiento se lo realiza por triplicado, el resultado se obtiene aplicando la Ecuación 2 y se lo expresa como equivalente al ácido cítrico:

$$\%Ac = \frac{[Vol\ gastado\ - Vol\ blanco\]*N_{NaOH}*Equi\ químico}{m*10}$$

Ecuación 2.- Cálculo de acidez



Figura 6.- Determinación de acidez

Fuente: El autor. Elaboración: El autor. Para la determinación de pH utilizamos el pH-metro digital (T 206-pH2, Testo, Alemania), la fruta previamente debe estar licuada o en forma líquida para que el bulbo pueda generar resultados de su lectura (Figura 7), este proceso se lo realiza por triplicado de acuerdo a la norma AOAC 981.12 (Horwitz, 2000).



Figura 7.- Determinación de pH **Fuente:** El autor.

Elaboración: El autor.

Los sólidos solubles fueron cuantificados según el método de la AOAC 932.12 (Horwitz, 2000), se utilizó un brixómetro digital de mano (30 PX, Mettler Toledo, Japón), la fruta en forma líquida se agrega manualmente sobre el lente del brixómetro para que el haz de luz pueda detectar los sólidos presentes (Figura 8).



Figura 8.- Determinación de los sólidos solubles

Fuente: El autor. Elaboración: El autor.

Con el fin de determinar el índice de madurez se utilizó la Ecuación 3 dispuesta en la norma INEN1909 (2009),

$$Índice de Madurez = \frac{SS(°Brix)}{Acidez \ titulable}$$

Ecuación 3.- Índice de madurez

Para determinar humedad se trabajó con la norma AOAC 920.151 (2000), los datos generados se usaron en la siguiente Ecuación 4 para determinar su porcentaje.

$$\% H = \begin{cases} \frac{[Peso\ final\ de\ la\ muestra\ con\ la\ cápsula\ (g)] - [Peso\ de\ la\ cápsula\ inicial\ (g)]}{Peso\ de\ la\ muestra\ (g)} \\ *100 \end{cases}$$

Ecuación 4.- Cálculo de humedad

3.4 Compuestos volátiles

3.4.1 Extracción de compuestos volátiles mediante SPME.

Para la extracción de compuestos volátiles se siguió el método descrito por Gebara, de Oliveira Ferreira, Ré-Poppi, Simionatto, y Carasek (2011), a continuación se describe brevemente el proceso:

- 1. Licuar la muestra y homogenizarla
- 2. Colocar 30 µL del estándar interno (decanol) en el fondo del vial de 15 mL
- 3. Agregar 8 g de muestra preparada, más 0.4 g de NaCl y 2 mL de agua destilada
- 4. Colocar un magneto de 7 mm y llevarlo al vórtex para homogenizar
- 5. Inmediatamente colocar dentro del bloque de calentamiento en el termo-agitador por 5 min como lo muestra la Figura 9 a.
- 6. Preparar la fibra en el puerto de inyección durante 15 min a 250 °C
- 7. Exponer la fibra del espacio de cabeza del vial por 30 min a 40 ± 2 °C, la muestra se mantiene en agitación constante
- 8. Transcurrido el tiempo, llevar la fibra al puerto de inyección del GC-MS para la desorción de los analitos (Figura 9 b)

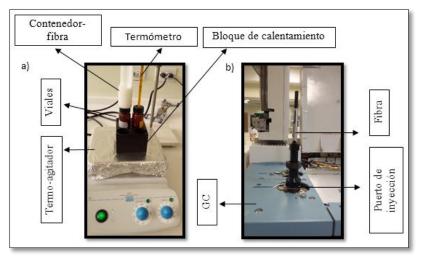


Figura 9.- Adsorción y desorción de volátiles

a) Extracción de compuestos volátiles, b) Desorción al puerto de inyección

Fuente: El autor. Elaboración: El autor.

3.4.2 Identificación de compuestos volátiles.

La identificación de compuestos se realizó en el cromatógrafo de gases (6890, Agilent Technologies, E.E.U.U) (Figura 10) acoplado al espectrómetro de masas (5973N, Agilent Technologies, E.E.U.U.). La columna capilar utilizada fue DB-5ms de polímero de fenil arileno similar a (5 % fenil)-polidimetilsiloxano (0.25 mm x 30 m x 0.25 um); el gas de arrastre utilizado fue helio a un flujo de 1 mL/min (pureza el 99,999 %). La rampa de temperatura fue 40 °C (5 min) hasta los 250 °C con una pendiente de 8 °C/min durante 26.25 min.



Figura 10.- Equipo GC-MS

Fuente: El autor. Elaboración: El autor.

Para la identificación de los compuestos volátiles del tomate de árbol se utilizó la biblioteca Wiley, que dispone de más 390.000 espectros de masas para 316.000 compuestos. Se considera un compuesto identificado cuando el índice de similitud (QM) es mayor a 80 y el índice de Kovats no difiere en ± 20 con valores de la biblioteca online NIST o referencias bibliográficas (Figueroa & Vargas, 2016). El proceso para calcular el Índice de Kovats (Ecuación 5) se describe en el Anexo 1.

$$I = 100 \left[n + (N - n) \frac{\log t' r (desconocido) - log t' r(n)}{\log t' r(N) - \log t' r(n)} \right]$$

Ecuación 5.- Ecuación para calcular el índice de Kovats

Dónde:

n = número de carbonos del alcano más corto.

N = número de átomos de carbonos del alcano más largo.

t'r (n)= tiempo de retención ajustado del alcano más corto.

t'r (N)= tiempo de retención del alcano más largo.

t'r (desconocido)= tiempo de retención del compuesto desconocido.

3.5 Antioxidantes

3.5.1 Extracción de antioxidantes

Los compuestos antioxidantes se extrajeron según la metodología descrita por Pérez-Jiménez y Saura-Calixto (2007), mediante extracción sólido-líquido, a continuación la descripción del procedimiento:

- 1 Pesar 2 g de muestra liofilizada
- 2 Agregar 20 mL de la mezcla metanol-agua destilada (50:50, v/v), acidificada hasta pH-2 con ácido clorhídrico
- 3 Agitar por 1 h en un mezclador horizontal (M 73625, Bigbill Digital, E.E.U.U.)
- 4 Centrífugar a 2800 rpm por 30 min (Clay Adams, Dynac, E.E.U.U.)
- 5 Extraer el sobrenadante limpio en un contendor
- 6 Agregar 20 mL de la mezcla acetona- agua destilada (70:30, v/v) al residuo
- 7 Repetir los pasos del 3 al 5 y mezclar los dos sobrenadantes

3.5.2 Cuantificación de antioxidantes y fenoles totales

La cuantificación de la actividad antioxidante se realizó por los métodos ABTS (Ácido-2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) y FRAP (Poder antioxidante reductor del hierro), de acuerdo a los métodos descritos por Thaipong, Boonprakob, Crosby, Cisneros-Zevallos, y Byrne (2006). Los resultados fueron expresados como micro moles equivalentes de Trolox por g de muestra en base húmeda. Los Fenoles Totales se midieron mediante el método de Folin-Ciocalteu y los resultados fueron expresados en equivalentes de ácido gálico por 100 g en muestra en base húmeda (Anexo 2).

3.6 Análisis estadístico

Para examinar los resultados entre las variedades de tomate de árbol, se utilizó el análisis de varianza ANOVA y la prueba de rangos múltiples Tukey con el 95 % de nivel de confianza, empleando el programa Minitab 16. En el Anexo 3 se presentan los diferentes cálculos realizados.

4 CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización de la materia prima

Previo a la identificación de los componentes volátiles y cuantificación de antioxidantes se analizó las características físicas de las tres variedades de tomate de árbol, los resultados están expuestos en la Tabla 2.

Tabla 2.- Características físicas del fruto

| | Color | | | Masa | Contenido | Diámetro (mm) | Longitud (mm) | Dureza (kgf) |
|------------|-----------------|------------------------|------------------------|--------------|--------------|------------------|------------------|-----------------|
| Variedad | Cartas Coloríme | | | | de Pulpa | | | |
| | Piel | Piel | Pulpa | (9) | (%) | () | (| (5-) |
| | Orange | L*= 56.13 ± 1.06 | L*= 48.54 ± 2.03 | - | - | - | - | - |
| Amarillo | group (C) | a*= 17.49 ± 2.00 | a*= 17.19 ± 1.75 | 150.3 ± 10.2 | 2 76.5 ± 2.4 | 60 ± 3 | 74 ± 9 | 1.5 ± 0.2 |
| | N25 | $b^* = 40.18 \pm 3.45$ | $b^* = 37.73 \pm 6.48$ | | | | | |
| | Greyed- | $L^* = 37.75 \pm 0.13$ | L*= 41.99 ± 1.31 | 90.2 ± 6.1 | 1 68.5 ± 4.3 | 50 ± 2 | 67 ± 3 | 1.1 ± 0.2 |
| Anaranjado | orange (A) | $a^* = 22.82 \pm 2.43$ | a*= 10.26 ± 1.55 | | | | | |
| | 172 | b*= 17.27 ± 2.94 | b*= 28.18 ± 2.04 | | | | | |
| | Greyed-red | $L^* = 35.40 \pm 0.28$ | L*= 47.08 ± 3.42 | | | | | |
| Morado | group (B) | a*= 22.71 ± 2.38 | $a^* = 12.93 \pm 0.62$ | 86.9 ± 9.1 | 71.1 ± 3.9 | 50 ± 1 | 71 ± 1 | 1.4 ± 0.2 |
| | 178 | b*= 14.91 ± 0.01 | $b^* = 30.97 \pm 3.94$ | | | | | |

Fuente: El autor. Elaboración: El autor.

n = 6

El color de la piel del tomate en las tres variedades fue evaluada visualmente según la tonalidad externa medida por cartas de color, en cambio con el colorímetro digital se midió a más de la superficie externa también fue la interna, los resultados se expresaron en las coordenadas (L*, a* y b*), varios estudios relacionan este tipo de representación 3D con la luminosidad (L*), a* es el cambio de rojo a verde (+a cercano a rojo y –a cercano a verde) y b* es el cambio azul al amarillo (+b cercano al azul y –b cercano al amarillo) (Baldevbhai & Anand, 2012; Heredia, Álvarez, González-Miret, & Ramírez, 2004; Hurtado, Morales, González-Miret, Escudero-Gilete, & Heredia, 2009). Varios autores indican que el color en el tomate del árbol se debe a la degradación de la clorofila y al aumento en la concentración de antocianinas y carotenos presentes (Portela, 1999; Prieto Pabon, 2016).

De las características físicas evaluadas en las tres variedades el tomate amarillo obtuvo una mayor masa, diámetro y longitud, clasificándola como "calibre grande" por cumplir los rangos máximos (> 120 g; > 55 mm; > 70 mm, respectivamente) declarados en la norma INEN1909 (2009). En cambio las variedades anaranjado y morado se encuentran en el calibre mediano (> 60 y < 120 g; > 45 y < 55 mm; > 60 y < 120 mm, respectivamente).

El rendimiento en pulpa de los tomates de árbol fue en promedio 76.53 %, en cambio, las variedades morado y anaranjado alcanzaron un rendimiento de pulpa el 71.07 y 68.46 %, respectivamente. Valores similares fueron encontrados por Torres (2012) de 74.45 % en la variedad morado.

La dureza o fuerza de compresión estuvo entre 1.42 kgf (morado) y 1.52 kgf (amarillo), estos valores están cercanos a los reportados por Vasco, Avila, Ruales, Svanberg, y Kamal-Eldin (2009) para el tomate morado y amarillo (1.83 kgf), además este parámetro se lo asocia con los análisis químicos de acidez, pH y sólidos solubles para tener representación sobre la madurez del fruto, en este sentido a mayor madurez se tendrá menor valor de acidez, mayor pH y mayor concentración de sólidos solubles Torres (2012).

Tabla 3.- Características químicas del fruto.

| Variedad | Acidez (%) | Sólidos Solubles (°Brix) | Índice de madurez | рН | Humedad (%) |
|------------|--------------------------|--------------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Amarillo | 1.76 ± 0.07 ^A | 8.97 ± 0.06 ^B | 5.10 ± 0.23 ^c | 3.92 ± 0.01 ^B | 89.20 ± 0.14 ^A |
| Anaranjado | 1.54 ± 0.06 ^B | 9.43 ± 0.06 ^B | 6.13 ± 0.26 ^B | 3.96 ± 0.01 ^B | 88.47 ± 0.02 ^B |
| Morado | 1.54 ± 0.07 ^B | 11.43 ± 0.38 ^A | 7.54 ± 0.21 ^A | 4.12 ± 0.01 ^A | 87.25 ± 0.14 ^c |

^{*} La acidez está expresado como equivalente a ácido cítrico. n= 3.

Fuente: El autor. Elaboración: El autor.

Se realizaron varios análisis químicos en las tres diferentes variedades de tomate de árbol que son expuestos en la Tabla 3 y el análisis estadístico está expuesto en el Anexo 4.

La acidez está entre 1.54 y 1.76 % equivalente a ácido cítrico, cumpliendo la normativa (< 2 %) INEN1909 (2009). Además, valores similares (1.7 y 1.8 %) fueron encontrados por varios autores (Acosta Q et al., 2011; Prieto Pabon, 2016; Vasco et al., 2009).

Los resultados de sólidos solubles de las tres variedades cumplen el requisito mínimo de madurez (8.5 °Brix) según la normativa INEN1909 (2009); la variedad que obtuvo una mayor cantidad de sólidos solubles fue la morado con 11.43 °Brix, los resultados están muy cercanos (11.3 °Brix) a los reportados en la variedad morado por Acosta Q et al. (2015).

Según la relación °Brix/acidez (Ecuación 3) todas las variedades están dentro del rango de madurez para consumo de mínimo 4.5. El índice de madurez encontrado fue menor a estudios realizados por Boyes y Strübi (1997) que reportan el valor de 6.9 para la variedad amarillo.

El pH de las tres variedades de tomate se encuentra entre 3.92 y 4.12, esta fruta tiene como característica principal poseer una gran acidez, de este modo se relaciona directamente con

el pH (Torres, 2012). En estudios previos se indican valores similares de pH 3.5 (Torres, 2012; Vasco et al., 2009).

El contenido de humedad encontrado en las variedades de tomate se encuentran entre 87 y 89 %, estos valores son similares a los reportados por Revelo et al. (2004) y Acosta Q et al. (2015) con valores de 86 y 87 %, respectivamente.

4.2 Compuestos volátiles

El aroma del tomate de árbol está conformado por un gran número de compuestos volátiles, en efecto entre las tres variedades se lograron identificar 32 compuestos volátiles, de los cuales son: 14 ésteres, 9 terpenoides, 6 alcoholes, 1 hidrocarburo aromático, 1 aldehído y 1 acetal. En la Tabla 4 se presentan las cantidades relativas de los compuestos identificados.

En la variedad amarillo se lograron identificar 27 componentes volátiles (Figura 11 a), los compuestos mayoritarios fueron el hexanoato de metilo (45.5 %), varios autores relacionan este tipo de compuesto con un olor fresco, sabroso y dulce (Ferreira, Perestrelo, & Câmara, 2009; J. A. Pino, 2014). El segundo compuesto fue el (E)-2-Hexanol, único aldehído identificado que presentó un área relativa importante de 13.7 %, algunos estudios relacionan este compuesto con el olor herbáceo-frutal (J. Pino, Celis, & Bent, 2012; J. A. Pino & Febles, 2013). El tercer compuesto mayoritario fue un terpeniode llamado eucaliptol, que presentó un área relativa de 6.5 %, según Jiang y Song (2010) este compuesto se lo relaciona con el olor alcanforado y fresco. El cuarto compuesto volátil mayoritario es el butanoato de etilo al contener un área relativa de 6.5 %, en estudios previos se asocia este compuesto con el olor intenso a fruta dulce (Ferreira et al., 2009; J. A. Pino, 2014). El quinto compuesto fue el butanoato de metilo que obtuvo un área relativa de 6.4 %, este compuesto está asociado a olores de otras frutas tales como la banana, manzana y piña (Ong et al., 2008; J. Pino et al., 2012).

De igual forma en el tomate anaranjado se identificaron 29 compuestos volátiles (Figura 11 b), a continuación se presentan los cinco compuestos mayoritarios: el hexanoato de etilo con un área relativa de 25.5 %, el segundo fue el hexanoato de metilo que presentó una área relativa de 20.3 %, el tercer compuesto mayoritario fue butanoato de etilo al poseer una área relativa de 16.3 %. El cuarto fue el (E)-2-Hexanol con una área relativa de 8.4 %. El quinto compuesto volátil mayoritario fue el etanol con 6.0 % de área relativa, algunos estudios asocian este compuesto al olor del alcohol y olor dulce (Ong et al., 2008; J. Pino et al., 2012).

En cambio en el tomate morado, si bien contiene varios compuestos volátiles similares a la variedad amarillo, éste varía por el área relativa que contiene (Figura 11 c), los cinco compuestos mayoritarios presentes en dicha variedad fueron: hexanoato de metilo, butanoato

de etilo, hexanoato de etilo, (E)-2-Hexanol y butanoato de metilo que presentaron un área relativa de 46.4 %, 11.0 %, 7.8 %, 7.8 % y 5.3 %, respectivamente.

Las tres variedades de tomate de árbol tienen un perfil aromático similar pero existe una diferencia marcada por la abundancia relativa y la presencia de 1 a 3 compuestos volátiles presentes en una sola variedad. Por ejemplo, el acetato de etilo, butanoato de propilo y octanoato de etilo se identificaron únicamente en la variedad anaranjado, según Jiang y Song (2010) este tipo de volátiles están asociados a olores frutales y brandy. En cambio, en la variedad morado se encuentran: el 2-butanoato de metilo y butanoato de pentilo que están asociados a olores frutales como la banana (Jiang & Song, 2010). Cabe recalcar que estos compuestos no superan el 2.3 % del área total en cada variedad.

Se identificaron 15 compuestos volátiles diferentes a los encontrados en estudios previos como: tolueno, etil 1-metilbutil éter, 2 butanoato de metilo, 1-butanol, acetato de isoamilo, acetato de pentilo, butirato de propilo, ∞-feladreno, fenil etil alcohol, β-feladreno, sabinena, β-myceno, acetato de hexilo, (Z) butirato 2 de pentilo y nerol; cabe mencionar que Durant et al. (2013) identificaron 58 compuestos usando una temperatura de extracción de 76 °C; en cambio Wong y Wong (1997) & Torrado et al. (1995) reportaron 49 y 46 compuestos, estos dos últimos estudios trabajaron la extracción líquido-líquido mediante solventes orgánicos como pentano y di-clorometano. Cabe indicar, que a pesar de que estos estudios presentan mayor cantidad de compuestos volátiles, estos pudieron haber sido generados por reacciones de degradación y pirólisis avanzada al utilizar temperaturas elevadas, por este motivo en la presente investigación se trabajó con una temperatura de extracción de 40 °C, con la finalidad de evitar este tipo de reacciones (Diaz-Maroto et al., 2002; Van Krevelen, 1975).

La familias mayoritarias de este estudio fueron los ésteres 43.75 %, los terpenoides con 28.13 % y los alcoholes con 18.75 %, pese a tener menos compuestos identificados que los estudios previos, estos resultados son porcentualmente mayores a los reportados por Wong y Wong (1997) 37.4 % de ésteres; y también mayores a los resultados de Durant et al. (2013) donde obtuvo como familia mayoritaria a los terpenoides con 31.5 % y los ésteres 30.5 % como segunda familia mayoritaria.

Tabla 4.- Compuestos identificados y cantidad relativa del tomate de árbol

| ., | • | nempo de | | Relativa (%) de las variedades de tomate de árbol | | | | | | | | | | | | | | |
|----|--------------------------|----------|--------|---|------|---|------|----------|------|---|------|------------|------|---|------|--------|------|---|
| # | Compuesto | | | • | | Referencia - | | Amarillo | | | Α | Anaranjado | | | | Morado | | |
| 1 | Etanol | 5.85 | 45.06 | 568 | 537 | (J. A. Pino & Febles, 2013) | 2.9 | ± | 0.44 | В | 6 | ± | 0.59 | Α | 1.4 | ± | 0.23 | С |
| 2 | Acetato de etilo | 6.96 | 87.1 | 626 | 612 | (J. A. Pino & Febles, 2013) | | | | | 0.9 | ± | 0.11 | | | | | |
| 3 | Butanoato de metilo | 8.38 | 101.12 | 699 | 720 | (Durant et al., 2013) | 6.4 | ± | 0.32 | Α | 3.1 | ± | 0.12 | В | 5.3 | ± | 0.13 | В |
| 4 | Tolueno | 9.31 | 91.13 | 750 | 759 | (Lasekan, Juhari, & Pattiram, 2011) | 2.1 | ± | 0.08 | Α | | | | | 2.3 | ± | 0.2 | Α |
| 5 | Butanoato de etilo | 9.76 | 115.15 | 774 | 778 | (Durant et al., 2013) | 6.5 | ± | 0.49 | С | 16.3 | ± | 0.71 | Α | 11 | ± | 0.39 | В |
| 6 | Etil 1-metilbutil éter | 10.3 | 115.19 | 800 | 808 | (J. Pino et al., 2012) | 0.2 | ± | 0.02 | В | 0.4 | ± | 0.07 | Α | 0.3 | ± | 0.01 | В |
| 7 | 2-Butanoato de metilo | 10.71 | 99.108 | 823 | 833 | (Rodríguez Burruezo, Kollmannsberger, Prohens, Nitz, & Nuez, 2004) | | | | | | | | | 0.6 | ± | 0.09 | |
| 8 | (E)-2-Hexanal | 10.94 | 97.14 | 836 | 829 | (Lasekan et al., 2011) | 13.7 | ± | 1.12 | Α | 8.4 | ± | 0.71 | В | 7.8 | ± | 1.09 | С |
| 9 | 1-Butanol | 11.2 | 73.11 | 850 | 668 | (Azodanlou, Darbellay, Luisier, Villettaz, & Amadò, 2003) | 1.5 | ± | 0.26 | В | 0.7 | ± | 0.04 | С | 2.4 | ± | 0.59 | Α |
| 10 | Acetato de isoamilo | 11.31 | 129.18 | 856 | 860 | (Azodanlou et al., 2003) | 1.7 | ± | 0.3 | В | 4.5 | ± | 0.7 | Α | 0.9 | ± | 0.12 | С |
| 11 | Acetato de pentilo | 11.45 | 127.16 | 863 | 890 | (Barbeni et al., 1990) | 1 | ± | 0.09 | В | 1.7 | ± | 0.17 | Α | 8.0 | ± | 0.1 | В |
| 12 | Butirato de propilo | 11.75 | 129.18 | 878 | 897 | (Azodanlou et al., 2003) | | | | | 0.4 | ± | 0.02 | | | | | |
| 13 | Hexanoato de metilo | 12.31 | 129.18 | 907 | 905 | (Durant et al., 2013) | 45.5 | ± | 1.94 | Α | 20.3 | ± | 2.18 | В | 46.4 | ± | 1.75 | Α |
| 14 | α-felandreno | 12.55 | 135.23 | 921 | 916 | (Durant et al., 2013) | 0.9 | ± | 0.7 | В | 0.9 | ± | 0.05 | В | 1 | ± | 0.12 | Α |
| 15 | Fenil etil alcohol | 12.97 | 121.16 | 946 | 1117 | (Baccouri et al., 2007) | 0.4 | ± | 0.06 | Α | 0.4 | ± | 0.03 | Α | 0.3 | ± | 0.03 | В |
| 16 | β-felandreno | 13.26 | 135.23 | 962 | 1003 | (Angioni, Barra, Coroneo, Dessi, & Cabras, 2006) | 0.6 | ± | 0.13 | Α | 0.4 | ± | 0.04 | В | 0.5 | ± | 0.07 | С |
| 17 | Sabinena | 13.6 | 135.23 | 980 | 975 | (Angioni et al., 2006) | 0.7 | ± | 0.07 | Α | 0.4 | ± | 0.04 | В | 0.6 | ± | 0.03 | В |
| 18 | β-myrceno | 13.78 | 135.23 | 990 | 990 | (J. A. Pino, 2014) | 0.3 | ± | 0.04 | В | 0.4 | ± | 0.05 | Α | 0.2 | ± | 0.01 | В |
| 19 | Hexanoato de etilo | 13.87 | 143.2 | 995 | 998 | (Durant et al., 2013) | 3.3 | ± | 0.16 | В | 25.5 | ± | 2.64 | Α | 7.8 | ± | 0.56 | В |
| 20 | Acetato de hexilo | 14.14 | 143.2 | 1009 | 1008 | (Azodanlou et al., 2003) | 0.2 | ± | 0.03 | В | 0.5 | ± | 0.03 | Α | 0.2 | ± | 0.01 | В |

Continuación. Tabla 4

| | | Tiempo de | | | Cantidad Relativa (%) de las variedades de tomate de árbol | | | | | | | | | | | | | |
|----|---------------------------|--------------------|--------|--------|--|------------------------|----------|---|------|------------|-----|---|--------|---|-----|---|------|---|
| # | Compuesto | retención (min) | m/z | IK exp | IK' ref | Referencia - | Amarillo | | | Anaranjado | | | Morado | | | | | |
| 21 | α-Terpineno | 14.52 | 135.23 | 1028 | 1022 | (Angioni et al., 2006) | 0.2 | ± | 0.03 | В | 0.3 | ± | 0.03 | Α | 0.2 | ± | 0.03 | В |
| 22 | p-cimeno | 14.69 | 133.21 | 1037 | 1026 | (Angioni et al., 2006) | 0.2 | ± | 0.03 | В | 0.7 | ± | 0.07 | Α | 0.2 | ± | 0.03 | В |
| 23 | Limoneno | 14.8 | 135.23 | 1042 | 1028 | (J. A. Pino, 2014) | 0.3 | ± | 0.02 | В | 0.4 | ± | 0.03 | Α | 0.3 | ± | 0.04 | В |
| 24 | Eucaliptol | 14.92 | 153.24 | 1048 | 1032 | (Durant et al., 2013) | 6.5 | ± | 0.37 | Α | 2.2 | ± | 0.2 | С | 3.8 | ± | 0.16 | В |
| 25 | (Z) Butirato de 2-pentilo | 15.28 | 157.23 | 1065 | 1024 | (J. A. Pino, 2014) | | | | | | | | | 1.2 | ± | 0.13 | |
| 26 | γ-terpineno | 15.35 | 135.23 | 1069 | 1062 | (Angioni et al., 2006) | 0.3 | ± | 0.03 | С | 0.7 | ± | 80.0 | В | 1 | ± | 0.06 | Α |
| 27 | Nerol | 15.93 | 153.24 | 1096 | 1210 | (Barbeni et al., 1990) | 0.2 | ± | 0.02 | В | 0.5 | ± | 80.0 | Α | 0.3 | ± | 0.05 | В |
| 28 | Benzoato de metilo | 16.16 | 135.14 | 1108 | 1091 | (J. A. Pino, 2014) | 8.0 | ± | 0.04 | Α | 0.5 | ± | 0.03 | В | 0.5 | ± | 0.07 | В |
| 29 | Octanoato de metilo | 16.45 | 157.23 | 1123 | 1128 | (Durant et al., 2013) | 1.1 | ± | 0.05 | Α | 0.6 | ± | 0.05 | В | 1.4 | ± | 0.12 | Α |
| 30 | Octanoato de etilo | 17.85 | 171.26 | 1194 | 1194 | (Durant et al., 2013) | | | | | 0.5 | ± | 0.02 | | | | | |
| 31 | Terpineno-4-ol | 17.94 | 153.24 | 1199 | 1185 | (Durant et al., 2013) | 0.4 | ± | 0.09 | В | 1.2 | ± | 0.11 | Α | 0.4 | ± | 0.09 | В |
| 32 | α-terpineol | 18.19 | 153.24 | 1213 | 1198 | (Durant et al., 2013) | 1.5 | ± | 0.01 | Α | 1.3 | ± | 0.14 | В | 0.7 | ± | 0.09 | С |

^{*}Letras diferentes en una misma fila indican que si existe diferencia significativa con un nivel de confianza del 95 %. Fuente: El autor. Elaboración: El autor.

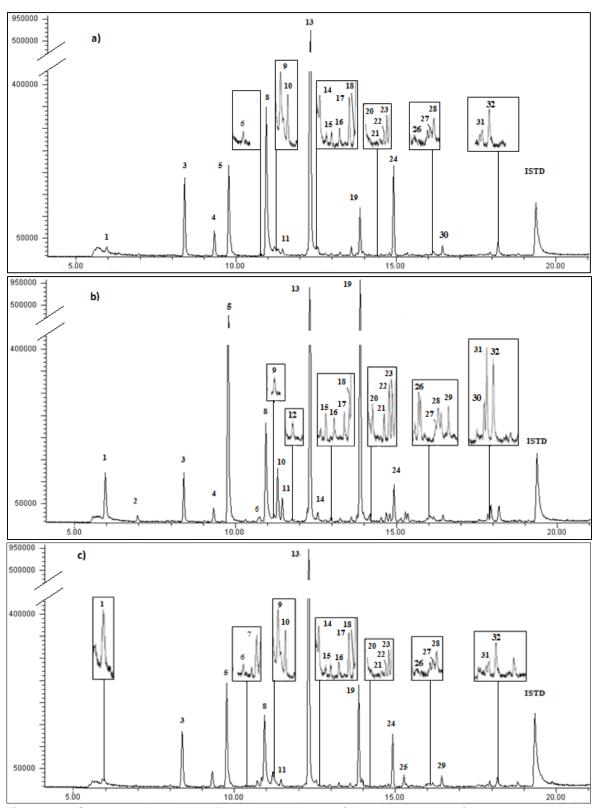


Figura 11.- Cromatogramas del perfil de compuestos volátiles del tomate de árbol

Variedad: a) amarillo, b) anaranjado, c) morado

Fuente: El autor. Elaboración: El autor.

4.3 Actividad antioxidante

Los resultados encontrados fueron tratados estadísticamente mediante el programa Minitab 16 llevando a cabo un ANOVA y una prueba de rangos múltiples Tukey (Anexo 5). Los resultados se exponen en la Tabla 5.

Tabla 5.- Resultados de antioxidantes

| Variedad | FT (mg EAG/100 g) | ABTS (μmol ET/g) | DPPH (μmol ET/g) | FRAP (μmol ET/g) |
|------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Amarillo | 6 ± 0.04 в | 0.6 ± 0.00 в | 1.0 ± 0.01 в | 0.7 ± 0.01 в |
| Anaranjado | 2 ± 0.17 _c | 0.2 ± 0.01 _c | 0.2 ± 0.01 _c | 0.2 ± 0.00 _c |
| Morado | 23 ± 0.11 _A | 1.8 ± 0.01 _A | 2.8 ± 0.01 _A | 2.4 ± 0.01 |

^{*(}A, B, C) Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa con un nivel de confianza del 95 %

Fuente: El autor. Elaboración: El autor.

El tomate de árbol morado presentó el mayor contenido de fenoles totales 23 ± 0.11 mg EAG/100 g, este valor fue superior 4 veces a la variedad amarillo 6 ± 0.04 mg EAG/100 g y 11 veces más que la variedad anaranjado 2 ± 0.17 mg EAG/100 g. Para la variedad amarillo se encontraron resultados superiores por Vasco et al. (2008) en el cual reportó 81 ± 13 mg EAG/100 g para la variedad amarillo y 81 ± 29 mg EAG/100 g para la variedad morado.

La variedad morado presentó una mayor actividad antioxidante medida por los tres métodos (ABTS, DPPH y FRAP), algunos autores relacionan el color de los frutos con la actividad antioxidante, estudios previos indican que a mayor color de la piel de la fruta se espera obtener una mayor actividad antioxidante, este resultado se corroboró en la presente investigación (Łata, 2007; Zhang et al., 2008).

En el método ABTS el tomate de árbol morado exhibió una cantidad 1.8 ± 0 µmol ET/g mayor que el tomate de árbol amarillo y anaranjado $(0.6 \pm 0.01 \text{ y } 0.2 \pm 0.01 \text{ µmol ET/g}$, respectivamente). En un estudio previo se han encontrado valores superiores para la variedad morado 6.3 µmol ET/g y 5.4 µmol ET/g para la variedad amarillo (Vasco et al., 2008). Por otra parte valores menores fueron reportados en base seca para la variedad amarillo 4.5 ± 0.6 µmol ET/g bs y valores superiores 70 ± 0.8 µmol ET/g bs para la variedad morado, en comparación con los

resultados obtenidos 7 \pm 0.01 μ mol ET/g bs y 17 \pm 0.04 μ mol ET/g bs, respectivamente (Espin et al., 2016).

Mediante el método cromogénico DPPH, se consiguió una cantidad mayor en promedio para el tomate morado $2.8 \pm 0.01 \ \mu mol\ ET/g$, en la variedad amarillo $1.0 \pm 0.01 \ \mu mol\ ET/g$ y apenas $0.2 \pm 0 \ \mu mol\ ET/g$ para el tomate anaranjado; valores similares fueron reportados por Vasco et al. (2008) donde obtuvo $4.2 \pm 1.0 \ \mu mol\ ET/g$ para el tomate morado y $2.6 \pm 0.4 \ \mu mol\ ET/g$ en el tomate amarillo.

En el método FRAP obtuvimos que el tomate morado tiene mayor actividad con un promedio de $2.4 \pm 0.01~\mu$ mol ET/g, tres veces más que el tomate amarillo $0.7 \pm 0.01~\mu$ mol ET/g y doce veces más para la variedad anaranjado $0.2 \pm 0~\mu$ mol ET/g; valores superiores fueron encontrados en un estudio previo, reportando para la variedad morado $6.3~\mu$ mol ET/g y $5.2~\mu$ mol ET/g para la variedad amarillo (Vasco et al., 2008). En otro estudio realizado por Espin et al. (2016) reportaron en base seca (bs) valores superiores para la variedad amarillo $17 \pm 0.5~\mu$ mol ET/g bs y valores menores para la variedad morado $15 \pm 0.2~\mu$ mol ET/g bs, comparados con los resultados alcanzados de $7 \pm 0.1~\mu$ mol ET/g bs, respectivamente.

Las diferencias encontradas se pueden atribuir a factores tales como el clima donde se cultivaron, variedades diferentes, métodos de extracción y madurez del fruto (Vasco et al., 2008).

Existe una alta correlación para el método ABTS/FT de las tres variedades de tomate extraídas con acetona-metanol con valores de R²= 0.9998. Con respecto a los ensayos DPPH/FT y FRAP/FT también existió una adecuada correlación con valores de R²= 0.9818 y R²= 0.9825 respectivamente (Figura 12). En ese sentido se puede atribuir que la actividad antioxidante se debe principalmente al contenido de compuestos fenólicos.

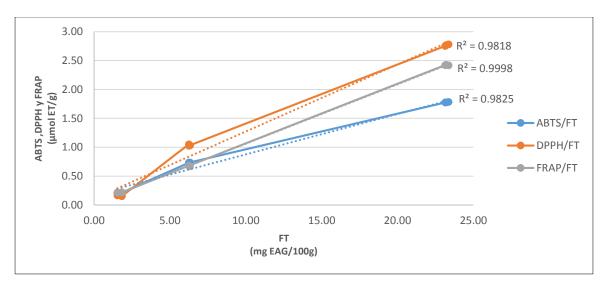


Figura 12.- Relación de la cuantificación de antioxidantes

Fuente: El autor. Elaboración: El autor.

Según el estudio de Carrillo Perdomo, Aller, Cruz-Quintana, Giampieri, y Alvarez Suarez (2015) la actividad antioxidante del tomate de árbol se debe a la presencia de ácidos fenólicos, flavonoides (antocianinas) y carotenoides.

CONCLUSIONES

- Se logró identificar 32 compuestos volátiles entre las tres variedades de tomate, la variedad anaranjado y morado obtuvieron 29 compuestos cada una y la variedad amarillo 27.
- ➤ El grupo químico éster presentó la mayor cantidad de componentes volátiles (43.75 %), seguido de los terpenoides (28.13 %), como áreas relativas.
- La abundancia relativa es uno de los factores más importantes para diferenciar el perfil aromático entre las variedades de tomate de árbol como por ejemplo, en la muestra anaranjado denotan: el butanoato de etilo y el hexanoato de etilo; en la variedad amarillo el eucaliptol tiene una notoria superioridad que las otras variedades.
- > La variedad morado presentó el mayor contenido de fenoles totales y actividad antioxidante.
- > Se determinó la actividad antioxidante en las tres variedades de tomate de árbol y se pudo deducir que la variedad morado de tomate de árbol mostró una moderada actividad antioxidante y las otras dos mostraron una baja actividad antioxidante.

RECOMENDACIONES

- Realizar una caracterización morfológica de los diferentes estados de madurez, para cada tipo de variedad de tomate de árbol, ya que en la actualidad no existe norma que contenga ese tipo de información.
- Analizar el perfil aromático de otras variedades como la roja y/o morado neozelandesa, empleando fibras de diferente polaridad.
- Determinar el perfil fenólico de las distintas variedades de tomate de árbol, mediante HPLC-DAD-MS.

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta Q, P. G., Martínez L, J. B., & Prohens, J. (2011). Variation among tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.) accessions from different cultivar groups: implications for conservation of genetic resources and breeding. *Genetic Resources and Crop Evolution*, *58*(6), 943-960.
- Acosta Q, P. G., Raigón, M. D., Riofrío Cuenca, T., García Martínez, M. D., Plazas, M., Burneo, J. I., . . . Prohens, J. (2015). Diversity for chemical composition in a collection of different varietal types of tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.), an Andean exotic fruit. *Food Chemistry*, 169, 327-335.
- Alonso, P., Salucci, M., Lázaro, R., Malani, G., & Ferro-Luzzi, A. (1999). Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. *Rev Cubana Alim Nutric*, *13*(2), 104-111.
- Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., & Cabras, P. (2006). Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(12), 4364-4370.
- Azodanlou, R., Darbellay, C., Luisier, J.-L., Villettaz, J.-C., & Amadò, R. (2003). Quality assessment of strawberries (*Fragaria* species). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(3), 715-721.
- Baccouri, B., Temime, S. B., Campeol, E., Cioni, P. L., Daoud, D., & Zarrouk, M. (2007). Application of solid-phase microextraction to the analysis of volatile compounds in virgin olive oils from five new cultivars. *Food Chemistry*, *102*(3), 850-856.
- Baldevbhai, P. J., & Anand, R. (2012). Color image segmentation for medical images using L* a* b* color space. *IOSR Journal of Electronics and Communication Engineering*, 1(2), 24-45.
- Barbeni, M., Guarda, P. A., Villa, M., Cabella, P., Pivetti, F., & Ciaccio, F. (1990). Identification and sensory analysis of volatile constituents of babaco fruit (*Carica pentagona* heilborn). *Flavour and Fragrance Journal*, *5*(1), 27-32.
- Bolaños, V., Cruz, M., & Caicedo Vargas, C. (2008). Estudio de las posibilidades agroindustriales del tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.): QUITO/UTE/2008.
- Boyes, S., & Strübi, P. (1997). Organic acid and sugar composition of three New Zealand grown tamarillo varieties (*Solanum betaceum* Cav.).
- Calle, K., & Camacho, A. (2008). La agricultura en el desarrollo económico del Cantón Guachapala, caso específico: tomate de mesa, tomate de árbol y babaco.
- Carrillo Perdomo, E., Aller, A., Cruz-Quintana, S., Giampieri, F., & Alvarez Suarez, J. (2015). Andean berries from Ecuador: A review on botany, agronomy, chemistry and health potential. *Journal of Berry Research*, *5*(2), 49-69.
- de Fatima Alpendurada, M. (2000). Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. *Journal of Chromatography A, 889*(1), 3-14
- de Rosso, V. V., & Mercadante, A. Z. (2007). HPLC–PDA–MS/MS of anthocyanins and carotenoids from dovyalis and tamarillo fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(22), 9135-9141.
- Del Valle, J., & Aguilera, J. (1999). Revision: Extracción con CO2 a alta presión. Fundamentos y aplicaciones en la industria de alimentos/Review: High pressure CO2 extraction. Fundamentals and applications in the food industry. *Revista de Agaroquimica y Tecnologia de Alimentos*, *5*(1), 1-24.
- Diaz-Maroto, M., Pérez-Coello, M. S., & Cabezudo, M. (2002). Headspace solid-phase microextraction analysis of volatile components of spices. *Chromatographia*, *55*(11), 723-728.

- Durant, A. A., Rodríguez, C., Santana, A. I., Herrero, C., Rodríguez, J. C., & Gupta, M. P. (2013). Analysis of Volatile Compounds from *Solanum betaceum* Cav. Fruits from Panama by Head-Space Micro Extraction. *Records of Natural Products*, 7(1), 15.
- Espin, S., Gonzalez-Manzano, S., Taco, V., Poveda, C., Ayuda-Durán, B., Gonzalez-Paramas, A. M., & Santos-Buelga, C. (2016). Phenolic composition and antioxidant capacity of yellow and purple-red Ecuadorian cultivars of tree tomato (Solanum betaceum Cav.). *Food chemistry*, 194, 1073-1080.
- Ferreira, L., Perestrelo, R., & Câmara, J. d. S. (2009). Comparative analysis of the volatile fraction from *Annona cherimola* Mill. cultivars by solid-phase microextraction and gas chromatography—quadrupole mass spectrometry detection. *Talanta*, *77*(3), 1087-1096.
- Figueroa, J. G., & Vargas, L. F. (2016). Evaluación de DES, FSC Y SPME/CG-MS para la extracción y determinación de compuestos responsables del aroma de café tostado de Vilcambamba-Ecuador. *Química Nova*, 39(6), 712-719.
- Gebara, S. S., de Oliveira Ferreira, W., Ré-Poppi, N., Simionatto, E., & Carasek, E. (2011). Volatile compounds of leaves and fruits of *Mangifera indica* var. *coquinho* (Anacardiaceae) obtained using solid phase microextraction and hydrodistillation. *Food Chemistry*, 127(2), 689-693.
- Harborne, A. (1998). *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*: springer science & business media.
- Heredia, F., Álvarez, C., González-Miret, M., & Ramírez, A. (2004). CromaLab, análisis de color. Registro General de la Propiedad Intelectual SE-1052-04: Sevilla, Spain, 10, 20-30.
- Horwitz, W. (2000). Official methods of analysis of AOAC International.
- Hurtado, N. H., Morales, A. L., González-Miret, M. L., Escudero-Gilete, M. L., & Heredia, F. J. (2009). Colour, pH stability and antioxidant activity of anthocyanin rutinosides isolated from tamarillo fruit (*Solanum betaceum* Cav.). *Food Chemistry*, *117*(1), 88-93.
- INEC. (2012). Encuesta de superficie y producción agropecuaria continua.
- INEN1909. (2009). Fresh fruit. Tree tomato. Requirements.
- Jiang, Y., & Song, J. (2010). Fruits and fruit flavor: classification and biological characterization. Handbook of fruit and vegetable flavors, 1.
- Lasekan, O., Juhari, N. H. B., & Pattiram, P. (2011). Headspace solid-phase microextraction analysis of the volatile flavour compounds of roasted chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of Food Processing and Technology*, 2(3).
- Łata, B. (2007). Relationship between apple peel and the whole fruit antioxidant content: year and cultivar variation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(3), 663-671.
- Lucas Uquillas, K. A., Chang, Y., José, M., & Maggi Tenorio, J. M. (2010). Creación de una empresa de producción, comercialización y exportación de tomate de árbol en el área de Sangolquí, provincia de Pichincha.
- Maria do Socorro, M. R., Alves, R. E., de Brito, E. S., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., & Mancini-Filho, J. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, *121*(4), 996-1002.
- Medina, L. A. (2010). Técnicas para la determinación de compuestos antioxidantes en alimentos: Autodidacta.
- Mertz, C., Gancel, A.-L., Gunata, Z., Alter, P., Dhuique-Mayer, C., Vaillant, F., . . . Brat, P. (2009). Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(5), 381-387.
- Morón, C. (1999). Importancia de los cultivos andinos en la seguridad alimentaria y nutrición. [Memorias de la Reunión Técnica y Taller de Formulación de Proyecto Regional sobre Producción y Nutrición Humana en Base a Cultivos Andinos. FAO, Centro Internacional de la Papa, Universidad Nacional del Altiplano, Universidad Nacional de San Agustín. Lima, Perú]. 31-53.

- Ong, B., Nazimah, S., Tan, C., Mirhosseini, H., Osman, A., Hashim, D. M., & Rusul, G. (2008). Analysis of volatile compounds in five jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) cultivars using solid-phase microextraction (SPME) and gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry (GC-TOFMS). *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(5), 416-422.
- Paltrinieri, G., & Figuerola, F. (1998). Procesamiento de frutas y hortalizas mediante métodos artesanales y de pequeña escala. *Oficina regional de la FAO para América latina y el caribe*, 241.
- Pérez-Jiménez, J., & Saura-Calixto, F. (2007). *Metodología para la evaluación de capacidad antioxidante en frutas y hortalizas*. Paper presented at the V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones., Cartagena.
- Pino, J., Celis, C. E. Q., & Bent, L. (2012). Determinación de la contribución al aroma de la guayaba cv. Suprema Roja de los componentes volátiles determinados por microextracción en fase sólida. *Alimentos Hoy, 21*(25), 17-25.
- Pino, J. A. (2014). Odour-active compounds in papaya fruit cv. Red Maradol. *Food Chemistry*, 146, 120-126.
- Pino, J. A., & Febles, Y. (2013). Odour-active compounds in banana fruit cv. Giant Cavendish. *Food Chemistry*, *141*(2), 795-801.
- Portela, S. (1999). Fisiología y manejo de postcosecha del tamarillo (*Cyphomandra betacea*). *Avances en Horticultura, 4*(1), 33-43.
- Prieto Pabon, L. J. (2016). Estudio de los compuestos bioactivos responsables del sabor del tomate de árbol var. amarilla (Solanum betaceum Cav.). Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá.
- Revelo, J., Pérez, E., & Maila, M. V. (2004). Cultivo ecológico del tomate de árbol en Ecuador: Texto de consulta del estudiante.
- Rodríguez Burruezo, A., Kollmannsberger, H., Prohens, J., Nitz, S., & Nuez, F. (2004). Analysis of the volatile aroma constituents of parental and hybrid clones of pepino (*Solanum muricatum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52*(18), 5663-5669.
- Skoog, D. A., Holler, F., & Timothy, A. D. A. (2001). *Principios de análisis instrumental*: McGraw-Hill Interamericana de España.
- Suzanne Nielsen, S. (2003). Análisis de los alimentos: manual de laboratorio. *Zaragoza: Acribia*. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, *19*(6), 669-675.
- Torrado, A., Suárez, M., Duque, C., Krajewski, D., Neugebauer, W., & Schreier, P. (1995). Volatile constituents from Tamarillo (*Cyphomandra betacea* Sendt.) fruit. *Flavour and Fragrance Journal*, *10*(6), 349-354.
- Torres, A. (2012). Caracterización física, química y compuestos bioactivos de pulpa madura de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 62(4), 381.
- Van Krevelen, D. (1975). Some basic aspects of flame resistance of polymeric materials. *Polymer, 16*(8), 615-620.
- Vasco, C., Avila, J., Ruales, J., Svanberg, U., & Kamal-Eldin, A. (2009). Physical and chemical characteristics of golden-yellow and purple-red varieties of tamarillo fruit (*Solanum betaceum* Cav.). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(sup7), 278-288.
- Vasco, C., Ruales, J., & Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food chemistry*, 111(4), 816-823.
- Vilaplana, M. (2007). Antioxidantes presentes en los alimentos. OFFARM, 26(10).
- Wong, K., & Wong, S. (1997). Volatile constituents of *Cyphomandra betacea* Sendt. fruit. *Journal of Essential Oil Research*, *9*(3), 357-359.
- Zhang, W., Li, X., Zheng, J., Wang, G., Sun, C., Ferguson, I. B., & Chen, K. (2008). Bioactive components and antioxidant capacity of Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. and Zucc.)

fruit in relation to fruit maturity and postharvest storage. *European Food Research and Technology*, 227(4), 1091-1097.

ANEXOS

Anexo 1.- Cálculo del índice de Kovats

Para calcular el índice de Kovats experimental se debe usar la Ecuación 5 de la siguiente manera:

| Nro. de alcanos | Compuesto | Tiempo de retención | Log del tr |
|-----------------|---------------------|---------------------|------------|
| | | (min) | |
| 11 | Undecano | 16.02 | 1.205 |
| 12 | Dodecano | 17.97 | 1.255 |
| | Octanoato de metilo | 17.85 | 1.252 |

Donde:

n = número de carbonos del alcano más corto.

N = número de átomos de carbonos del alcano más largo.

t'r (n)= tiempo de retención ajustado del alcano más corto.

t'r (N)= tiempo de retención del alcano más largo.

t'r (desconocido)= tiempo de retención del compuesto desconocido.

$$I = 100 \left[n + (N - n) \frac{log'_{r(}desconocido) - log'_{r(}n)}{log'_{r(}N) - log'_{r(}n)} \right]$$

$$I = \left[11 + (12 - 11) \frac{(1.252 - 1.205)}{(1.255 - 1.205)} \right]$$

$$I = 1123$$

Anexo 2.- Cálculo para la determinar la actividad antioxidante.

A continuación se muestra como ejemplo el procedimiento para determinar la actividad antioxidante mediante ABTS:

| | | 1 |
|-----|------------------------------|---------|
| y= | absorbancia | 0.158 |
| m= | pendiente | 0.075 |
| X= | concentración | ? |
| b= | intersección | 2.969 |
| W= | peso | 2.00013 |
| HI= | Humedad liofilizado (g/100g) | 7.6 |
| H= | Humedad de la fruta | 89.2 |
| Fd= | Factor de dilución | 1 |

En base seca

$$x = \frac{y - b}{m}$$

 $Concentración = x = 356 \mu mol/L$

$$ABTS = \frac{356 \,\mu mol/L}{1 \,mg/mL} * \frac{1L}{1000 \,mL} * \frac{40}{1} * \frac{1}{2.00013 \,g} * \frac{100 \,mg}{(100 - 7.6)}$$

$$ABTS = 7.70 \, \mu mol \, ET/g$$

En base húmeda

$$ABTS = \frac{356 \,\mu mol/L}{1 \,mg/mL} * \frac{1L}{1000 \,mL} * \frac{40}{1} * \frac{1}{2.00013 \,g} * \frac{10 \,mg}{(89.2)}$$

$$ABTS = 0.7 \, \mu mol \, ET/g$$

Anexo 3.- Análisis estadístico de los compuestos volátiles

Se presentan ejemplos de los 7 compuestos mayoritarios, cabe indicar que se realizó el análisis para cada uno los compuestos.

One-way ANOVA: etanol versus variedad

Analysis of Variance

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---------|----|---------|---------|---------|---------|
| muestra | 2 | 2.07942 | 1.03971 | 211.60 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.02948 | 0.00491 | | |
| Total | 0 | 2 10000 | | | |

Tukey Pairwise Comparisons

| muestra | Ν | Mean | Grouping |
|------------|---|----------|----------|
| anaranjado | 3 | 1.0749 | В |
| amarillo | 3 | 0.07359 | A |
| morado | 3 | 0.037769 | С |

One-way ANOVA: butaonato de metilo versus variedad

Analysis of Variance

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|---------|----|----------|----------|---------|---------|
| muestra | 2 | 0.383329 | 0.191665 | 136.30 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.008437 | 0.001406 | | |
| Total | 8 | 0.391766 | | | |

Tukey Pairwise Comparisons

| muestra | N | Mean | Grouping |
|------------|---|---------|----------|
| amarillo | 3 | 0.90750 | A |
| morado | 3 | 0.4747 | В |
| anaranjado | 3 | 0.4649 | В |

One-way ANOVA: butanoato de etilo versus variedad

Analysis of Variance

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|----------|----|--------|---------|---------|---------|
| variedad | 2 | 8.5470 | 4.27352 | 127.71 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.2008 | 0.03346 | | |
| Total | 8 | 8.7478 | | | |

Tukey Pairwise Comparisons

| variedad | N | Mean | Grouping |
|------------|---|--------|----------|
| anaranjado | 3 | 2.966 | С |
| amarillo | 3 | 0.9846 | A |
| morado | 3 | 0.8223 | В |

One-way ANOVA: (E)-2-Hexenal versus variedad

Analysis of Variance

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|----------|----|---------|---------|---------|---------|
| variedad | 2 | 2.34745 | 1.17373 | 91.43 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.07702 | 0.01284 | | |

Total 8 2.42447

Tukey Pairwise Comparisons

| variedad | N | Mean | Grouping |
|------------|---|--------|----------|
| amarillo | 3 | 1.9073 | A |
| anaranjado | 3 | 1.2731 | В |
| morado | 3 | 0.6563 | С |

One-way ANOVA: hexanoato de metilo versus variedad

Analysis of Variance

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|----------|----|---------|--------|---------|---------|
| variedad | 2 | 19.5113 | 9.7556 | 69.09 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.8472 | 0.1412 | | |
| Total | 8 | 20.3585 | | | |

Tukey Pairwise Comparisons

| variedad | N | Mean | Grouping |
|------------|---|--------|----------|
| amarillo | 3 | 6.473 | A |
| morado | 3 | 3.712 | В |
| anaranjado | 3 | 3.0825 | В |

One-way ANOVA: hexanoato de etilo versus variedad

Analysis of Variance

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|----------|----|--------|---------|---------|---------|
| variedad | 2 | 9.6699 | 4.83494 | 111.09 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.2611 | 0.04352 | | |
| Total | 8 | 9.9310 | | | |

Tukey Pairwise Comparisons

| variedad | N | Mean | Grouping |
|------------|---|---------|----------|
| anaranjado | 3 | 2.712 | A |
| morado | 3 | 0.57059 | В |
| amarillo | 3 | 0.4600 | A |

One-way ANOVA: eucaliptol versus variedad Analysis of Variance

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|----------|----|----------|----------|---------|---------|
| variedad | 2 | 0.749119 | 0.374560 | 315.15 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.007131 | 0.001189 | | |
| Total | 8 | 0.756250 | | | |

Tukey Pairwise Comparisons

| variedad | N | Mean | Grouping |
|------------|---|---------|----------|
| amarillo | 3 | 0.9154 | A |
| anaranjado | 3 | 0.32863 | С |
| morado | 3 | 0.2810 | В |

Anexo 4.- Análisis estadístico de las características químicas.

One-way ANOVA: acidez versus variedad

Analysis of Variance

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|----------|----|---------|----------|---------|---------|
| variedad | 2 | 0.09455 | 0.047276 | 10.08 | 0.012 |
| Error | 6 | 0.02813 | 0.004689 | | |
| m | _ | 0 10060 | | | |

Total 8 0.12268

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

| variedad | N | Mean | Grouping |
|------------|---|--------|----------|
| amarillo | 3 | 1.7596 | A |
| morado | 3 | 1.5443 | В |
| anaranjado | 3 | 1.5402 | В |

One-way ANOVA: sólidos solubles versus variedad

Analysis of Variance

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|----------|----|---------|---------|---------|---------|
| variedad | 2 | 10.3022 | 5.15111 | 103.02 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.3000 | 0.05000 | | |
| Total | 8 | 10.6022 | | | |

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

```
variedad N Mean Grouping
morado 3 11.433 A
anaranjado 3 9.4333 B
amarillo 3 8.9667 B
```

One-way ANOVA: índice de madurez versus variedad

Analysis of Variance

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|----------|----|--------|---------|---------|---------|
| variedad | 2 | 8.9770 | 4.48848 | 83.14 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.3239 | 0.05399 | | |
| Total | 8 | 9.3009 | | | |

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

```
variedad N Mean Grouping morado 3 7.540 A anaranjado 3 6.133 B amarillo 3 5.103 C
```

One-way ANOVA: pH versus variedad

Analysis of Variance

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value |
|----------|----|----------|----------|---------|---------|
| variedad | 2 | 0.037756 | 0.018878 | 89.42 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.001267 | 0.000211 | | |

Total 8 0.039022

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

variedad N Mean Grouping
morado 3 4.12667 A
amarillo 3 3.92600 B
anaranjado 3 3.96000 B

One-way ANOVA: humedad versus variedad

Analysis of Variance

 Source
 DF
 Adj SS
 Adj MS
 F-Value
 P-Value

 variedad
 2
 5.80927
 2.90463
 226.53
 0.000

 Error
 6
 0.07693
 0.01282
 0.01282
 0.000

 Total
 8
 5.88620
 0.000
 0.000
 0.000
 0.000

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

variedad N Mean Grouping amarillo 3 89.2000 A anaranjado 3 88.4767 B morado 3 87.2533 C

Anexo 5.- Análisis estadístico de antioxidantes

ANOVA: FT versus variedad

| Fuente | GL | SC | CM | F | P |
|--------|----|----------|----------|----------|-------|
| Sample | 2 | 71341.87 | 35670.93 | 27075.58 | 0.000 |
| Error | 6 | 7.90 | 1.32 | | |
| Total | 8 | 71349.77 | | | |

Tukey Pairwise Comparisons

| Sample | N | Media | Agrupación |
|------------|---|-------|------------|
| morado | 3 | 23.25 | A |
| amarillo | 3 | 6.27 | В |
| anaranjado | 3 | 1.73 | С |

ANOVA: ABTS versus variedad

| Fuente | GL | SC | CM | F | P |
|--------|----|----------|----------|---------|-------|
| Sample | 2 | 42.34178 | 21.17089 | 7238.69 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.01755 | 0.00292 | | |
| Total | 8 | 42.35933 | | | |

Tukey Pairwise Comparisons

| Sample | N | Media | Agrupación |
|------------|---|-------|------------|
| amarillo | 3 | 1.78 | A |
| morado | 3 | 0.56 | В |
| anaraniado | 3 | 0 21 | C |

ANOVA: DPPH versus variedad

| Fuente | GL | SC | CM | F | P |
|--------|----|----------|----------|----------|-------|
| Sample | 2 | 978.1441 | 489.0720 | 41461.57 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.0708 | 0.0118 | | |
| Total | 8 | 978.2148 | | | |

Tukey Pairwise Comparisons

| Sample | N | Media | Agrupación |
|------------|---|-------|------------|
| morado | 3 | 2.77 | A |
| amarillo | 3 | 1.04 | В |
| anaranjado | 3 | 0.16 | С |

ANOVA: FRAP versus variedad

| Fuente | GL | SC | CM | F | P |
|--------|---------------------|----------|----------|-----------|-------|
| Sample | 2 | 750.9849 | 375.4925 | 222636.15 | 0.000 |
| Error | 6 | 0.0101 | 0.0017 | | |
| Total | 8 | 750.9951 | | | |

Tukey Pairwise Comparisons

| Sample | Ν | Media | Agrupación |
|------------|---|-------|------------|
| morado | 3 | 2.42 | A |
| amarillo | 3 | 0.68 | В |
| anaranjado | 3 | 0.22 | С |