

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Departamento Académico de Ciencia, Tecnología e Ingeniería de Alimentos



**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL
NONI (*Morinda citrifolia* L.) EN TRES ESTADOS DE
MADUREZ EN TINGO MARÍA**

TESIS

Para Optar el Título de:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Presentado por:

JOEL PORFIRIO SULLÓN VARGAS

Promoción 2006 - II

TINGO MARÍA - PERÚ

2009

F60

S91

Sullón Vargas, Joel P.

Evaluación de la Actividad Antioxidante del Noni (*Morinda citrifolia* L.) en tres Estados de Madurez en Tingo María. Tingo María, 2009

85 h.; 24 cuadros; 12 fgrs.; 104 ref.; 30 cm.

Tesis (Ing. Industria Alimentarias) Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María (Perú). Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias.

MORINDA CITRIFOLIA L. / ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE / NONI /

POLIFENOLES TOTALES / RADICALES LIBRES / METODOLOGÍA /

TINGO MARÍA / RUPA RUPA / LEONCIO PRADO / HUÁNUCO / PERÚ.



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María
FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
Av. Universitaria s/n. Teléfono (062) 561385 – Fax (062) 561156
Apart. Postal 156 Tingo María E.mail; fia@unas.edu.pe

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos en acto público el 28 de Mayo de 2009, a horas 11:00 a.m. en la Sala de Audiovisuales de la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicada en la ciudad de Tingo María, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco, para calificar la tesis presentado por el Bach. **SULLÓN VARGAS, Joel Porfirio**, titulada:

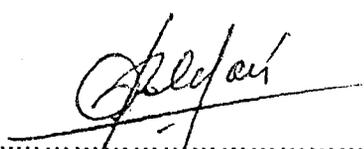
“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL NONI (*Morinda citrifolia* L.) EN TRES ESTADOS DE MADUREZ EN TINGO MARIA”

Después de haber escuchado la sustentación, las respuestas a las preguntas formuladas, lo declaran **A.P.R.O.B.A.D.O** con el calificativo de **BIENO...**, en consecuencia el Bachiller, queda apto para recibir el título de **Ingeniero en Industrias Alimentarias** del Consejo Universitario, de conformidad con el Art. 22° de la Ley Universitaria 23733; los artículos 51° y 52° del Estatuto Actualizado de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 28 de Mayo de 2009


.....
Ing. MSc. **Gunter Daza Rengifo**
Presidente


.....
Ing. **Raida L. Matos Bustamente**
Miembro


.....
Ing. **Williams V. Roldán Carbajal**
Miembro


.....
Dra. **Elizabeth S. Ordóñez Gómez**
Asesora

DEDICATORIA

A **DIOS TODOPODEROSO** por concederme la vida, fuerzas y sabiduría, guiándome a cada instante de mi vida para terminar con éxito ésta meta trazada.

A mi madre, **PAZ VARGAS** con infinita gratitud, por sus invaluable consejos, comprensión y apoyo, por inculcarme valores morales y espirituales que fueron los pilares para culminar mi carrera profesional.

A mi esposa **CHING LIG**, mi compañera de siempre, por su amor, comprensión y apoyo desinteresado y con inmenso amor a mi hijo **ALBERT JATNIEL** el mejor regalo que Dios me dio.

A mis hermanos: **Carmen, Ángel y Josefina** y a **Maruja y Juan** por su comprensión y apoyo incondicional.

A mis sobrinos (as): **Jonathan, Yaritza, José, Dilther, Christopher, Angeli, Keylit, Benjamín y Doli**; esperando haber sido un ejemplo a imitar.

AGRADECIMIENTOS

Mi mas sincero agradecimiento a todas las personas que de una forma u otra han contribuido en la realización de ésta tesis. A la Universidad Nacional Agraria de la Selva por acogerme en sus aulas y formarme profesionalmente.

Al Centro de Investigaciones de Productos Naturales de la Amazonía (CIPNA) y a todos los que dirigen este centro de investigación.

A la Dra. Elizabeth S. Ordóñez Gómez, asesora del presente trabajo de investigación, por su amistad, comprensión, apoyo y paciencia durante la realización de la tesis, por su ejemplo de superación, consejos y enseñanzas vertidos hacia mi persona.

Al PhD. Manuel Sandoval Chacón, por su tiempo y dedicación como co-asesor de esta tesis, por permitirme un espacio en el laboratorio y facilitarme reactivos.

Al Dr. Tomas Menacho Mallqui, por su amistad y apoyo brindado en la revisión del presente trabajo.

A los ingenieros Juan Villanueva y Darlin Reátegui, por su orientación en las técnicas de evaluación y apoyo desinteresado.

A la familia Flores Gastelú, muy en especial a Julián e Ida por su confianza, aprecio y apoyo desinteresado.

Al Sr. Lennin Ocampo Barboza y su Sr. padre, Edwin Ocampo Cárdenas, quienes nos proporcionaron la fruta de noni para los análisis experimentales.

A todos mis profesores de la FIIA, quienes contribuyeron en mi formación profesional.

A los señores: Carlos Salazar, Diana, Zoila, Juan Soto, Celedonio Yacha, Glelia Ríos, Aurelia León, Lucas y Alberto Vásquez por sus acertados consejos y apoyo desinteresado para la realización de esta tesis.

A mis compañeros y amigos: Johan, Jorge Luís, Aminadab, Félix Yubani, Justo, Oscar, Litman, Helmut, Manuel, Davy, Leticia, Félix y Leonor, por ser grandes amigos, por su apoyo y motivación en mis momentos difíciles.

A todos los que creyeron en mí, me apoyaron, me ayudaron y me aconsejaron.

¡Sinceramente, mil Gracias!

ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	01
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	03
A. Generalidades del noni	03
1. Aspectos generales	03
2. Descripción botánica	04
3. Taxonomía	04
4. Características del fruto	05
5. Componentes del noni	06
6. Composición físico químico del noni	06
B. Términos para determinar el estado de madurez de las frutas .	07
1. Madurez	07
2. Maduración	07
3. Madurez de cosecha o comercial	08
4. Madurez fisiológica	09
5. Madurez organoléptica	09
6. Estados de madurez	10
7. Índice de madurez	10
C. Radicales libres	11
1. Definición	11
a) Radical 1,1 difenil-2-picril-hidrazil (DPPH)	13

b) Radical 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline – 6 ácido sulfónico) (ABTS ^{o+})	14
c) Radical peroxilo	15
2. ¿Donde se producen los radicales libres?.....	15
3. Fuentes de producción de radicales libres	16
4. Radicales libres derivados del oxígeno y otros	17
D. Antioxidantes	18
1. Definición	18
2. Función de los antioxidantes	18
3. Tipos de antioxidantes	19
4. Ácido ascórbico (Vitamina C)	20
5. Polifenoles	24
III. MATERIALES Y MÉTODOS	29
A. Lugar de ejecución	29
B. Materia prima	29
C. Equipos, materiales y reactivos	30
1. Equipos de laboratorio	30
2. Materiales de laboratorio	30
3. Reactivos y solventes	31
D. Métodos de análisis	32
1. Análisis físico químico	32
2. Cuantificación de ácido ascórbico	33
3. Cuantificación de polifenoles totales	33
4. Evaluación de la actividad antioxidante	33

E.	Metodología experimental	34
1.	Análisis físico químico de la pulpa de noni en tres estados de madurez	34
2.	Preparación de la muestra	34
3.	Cuantificación de ácido ascórbico en el jugo de noni en tres estados de madurez	35
4.	Cuantificación de polifenoles totales en el jugo de noni en tres estados de madurez	36
5.	Evaluación de la actividad antioxidante en el jugo de noni en tres estados de madurez	37
	Diseño experimental	41
IV.	RESULTADOS	42
A.	Análisis físico químico de la pulpa de noni en tres estados de madurez	42
B.	Cuantificación de ácido ascórbico en el jugo de noni en tres estados de madurez	43
1.	Determinación de la curva estándar de ácido ascórbico	43
2.	Cuantificación de ácido ascórbico	44
C.	Cuantificación de polifenoles totales en el jugo de noni en tres estados de madurez	45
1.	Determinación de la curva estándar de polifenoles totales	45
2.	Cuantificación de polifenoles totales	46

D.	Evaluación de la actividad antioxidante en el jugo de noni en tres estados de madurez	47
1.	Inhibición del radical 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH)	47
2.	Capacidad de inhibir el catión 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline – 6 ácido sulfónico) (ABTS ^{o+})	48
3.	Capacidad de inhibición del radical peroxilo	49
V.	DISCUSIÓN	50
A.	Análisis físico químico de la pulpa de noni en tres estados de madurez	50
1.	Humedad	50
2.	Proteína	51
3.	Grasa	51
4.	Fibra	52
5.	Cenizas	52
6.	Carbohidratos	53
7.	pH	54
8.	Sólidos solubles (°Bx)	54
9.	Acidez	55
10.	Índice de madurez	56
B.	Cuantificación de ácido ascórbico en el jugo de noni en tres estados de madurez	56
1.	Determinación de la curva estándar de ácido ascórbico	56
2.	Cuantificación de ácido ascórbico	57

C.	Cuantificación de polifenoles totales en el jugo de noni en tres estados de madurez	59
1.	Determinación de la curva estándar de polifenoles totales	59
2.	Cuantificación de polifenoles totales	60
D.	Evaluación de la actividad antioxidante en el jugo de noni en tres estados de madurez	62
1.	Inhibición del radical 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH)	62
2.	Capacidad de inhibir el catión 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazoline – 6 ácido sulfónico) (ABTS ^{o+})	63
3.	Capacidad de inhibición del radical peroxilo	65
VI.	CONCLUSIONES	67
VII.	RECOMENDACIONES	68
VIII.	ABSTRACT	69
IX.	BIBLIOGRAFÍA	71
X.	ANEXO	85

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1.	Radicales libres derivados del oxígeno y otros	17
2.	Resultados del análisis físico químico de la pulpa de noni en tres estados de madurez	42
3.	Lectura de la absorbancia a partir de la concentración de ácido ascórbico	43
4.	Contenido de ácido ascórbico en el jugo de noni en tres estados de madurez	44
5.	Lectura de la absorbancia a partir de la concentración de (+) Catequina	45
6.	Contenido de polifenoles totales en el jugo de noni en tres estados de madurez	46
7.	Inhibición de radicales libres de DPPH (IC ₅₀) en el jugo de noni en tres estados de madurez	47
8.	Determinación del IC ₅₀ del radical ABTS ^{o+} en el jugo de noni en tres estados de madurez	48
9.	Determinación del IC ₅₀ del radical peroxilo en el jugo de noni en tres estados de madurez	49
10.	ANVA del análisis de humedad	84

11.	ANVA del análisis de proteína	84
12.	ANVA del análisis de grasa	84
13.	ANVA del análisis de fibra	85
14.	ANVA del análisis de cenizas	85
15.	ANVA del análisis de carbohidratos	85
16.	ANVA del análisis de pH	85
17.	ANVA del análisis de sólidos solubles	86
18.	ANVA del análisis de acidez	86
19.	ANVA del análisis de índice de madurez	86
20.	ANVA del contenido de ácido ascórbico en el jugo de noni en tres estados de madurez	87
21.	ANVA del contenido de polifenoles totales en el jugo de noni en tres estados de madurez	87
22.	ANVA de la capacidad de inhibir el radical DPPH en el jugo de noni en tres estados de madurez	88
23.	ANVA de la capacidad de inhibir el radical ABTS ^{o+} en el jugo de noni en tres estados de madurez	88
24.	ANVA de la capacidad de inhibir el radical peroxilo en el jugo de noni en tres estados de madurez	88

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Fruta de Noni (<i>Morinda citrifolia</i> L.)	05
2.	Química de la inhibición del radical libre por una especie antioxidante	14
3.	Molécula de Ácido ascórbico oxidada y reducida	21
4.	Algunos compuestos fenólicos presentes en alimentos	25
5.	Diseño Experimental	41
6.	Curva estándar para la cuantificación de ácido ascórbico	43
7.	Comportamiento del contenido de ácido ascórbico en el jugo de noni en tres estados de madurez	44
8.	Curva estándar de (+) -catequina para la cuantificación de polifenoles totales	45
9.	Comportamiento del contenido de polifenoles totales en el jugo de noni en tres estados de madurez	46
10.	Comportamiento del IC ₅₀ del radical DPPH en el jugo de noni en tres estados de madurez	47
11.	Comportamiento del IC ₅₀ del radical ABTS ^{o+} en el jugo de noni en tres estados de madurez.....	48
12.	Comportamiento del IC ₅₀ del radical peroxilo en el jugo de noni en tres estados de madurez	49

RESUMEN

En la actualidad existe mucho interés por la búsqueda de antioxidantes de fuentes naturales incluyendo el noni (*Morinda citrifolia* L.). Su consumo es promocionado debido a sus propiedades funcionales que posee, además es utilizado como suplemento dietético alimenticio por sus bondades nutricionales, ya que su consumo puede ser en jugos, néctares, concentrados, tabletas o capsulas. El objetivo fue determinar las características fisicoquímicas, el contenido de ácido ascórbico, polifenoles totales y su actividad antioxidante mediante los métodos: DPPH, ABTS^{o+} y Peroxilo en frutos de noni en estados de madurez pintón, maduro y sobremaduro. Esta investigación se llevó a cabo, en el laboratorio del Centro de Investigaciones de Productos Naturales de la Amazonía (CIPNA-UNAS). La caracterización fisicoquímica (AOAC, 1997), la cuantificación del ácido ascórbico método HUNG y YEN (2002), cuantificación de polifenoles totales se utilizó el método Folin Ciocalteu SANDOVAL *et al.* (2001); la actividad antioxidante mediante el radical DPPH método de BRAND-WILLIAMS *et al.* (1995), modificado por SANDOVAL *et al.* (2001). Para el cación ABTS^{o+} método PELLIGRINI *et al.* (1999) y para el radical peroxilo método TRAP (poder total de actividad reductora) SANDOVAL *et al.* (2001). El mayor porcentaje de humedad, proteína, fibra y cenizas se encuentra en las frutas en estado pintón, mientras que los carbohidratos, sólidos solubles y

acidez en el estado sobre maduro, se notó una disminución progresiva del pH durante la maduración de la fruta y la grasa se mantuvo constante para los tres estados de madurez. El fruto en estado maduro tuvo el mayor contenido de ácido ascórbico $252,975 \pm 1,87$ mgAA/100ml; y polifenoles totales $232,413 \pm 6,76$ mg de catequina/100ml de jugo de noni. Para el radical DPPH se encontró como mejor tratamiento al estado maduro IC_{50} $149,475 \pm 0,55$ ug/ml; en el método del catión $ABTS^{o+}$ el mejor fue el estado de madurez pintón IC_{50} $145,490 \pm 0,58$ ug/ml y este mismo estado de madurez fue el mejor en el radical peroxilo IC_{50} $106,065 \pm 1,98$ ug/ml.

I. INTRODUCCIÓN

Los compuestos antioxidantes, presentes en forma natural en los alimentos, cada día cobran mayor importancia debido al papel que desempeñan en la salud humana, puesto que previenen y se encargan en eliminar aquellas sustancias potencialmente nocivas y generadoras de desórdenes y enfermedades en el ser humano. La protección que las frutas y los vegetales brindan contra las enfermedades degenerativas como cáncer, enfermedades cardiovasculares, cerebrovasculares y sus propiedades antimutagénicas y antienvjecimiento ha sido atribuida a su alto contenido de diversos antioxidantes. Los procesos degenerativos se han relacionado con la acción de especies reactivas de oxígeno (EROS) que dañan los componentes celulares, y los efectos terapéuticos sobre estas enfermedades están vinculados con el sistema antioxidante (DRAGO *et al.*, 2006).

Desde tiempos remotos las plantas se utilizaron como alimentos, recursos terapéuticos para combatir o prevenir diversas enfermedades que afectaban a la población. Una de las frutas o frutos que se comercializan mundialmente es el noni (*Morinda citrifolia* L), atribuyéndole propiedades nutraceuticas por que existen evidencias que el jugo de este fruto puede ayudar favorablemente a combatir algunas enfermedades como: presión alta,

artritis, úlceras gástricas, arteriosclerosis, problemas con válvulas sanguíneas entre otros, se cree que los compuestos polifenólicos, ácido ascórbico entre otros componentes son atribuidos principalmente a su actividad antioxidante, sin embargo, es escasa la disponibilidad de investigación científica sobre los estados de madurez para la cosecha, variedades, vida útil del fruto y productos procesados (HIRAZUMI *et al.*, 2006).

El noni es una planta que crece en zonas tropicales y en la actualidad se viene cultivando en el departamento de Ucayali y también en el Alto Huallaga donde es promovido como cultivo alternativo por sus bondades funcionales. Los productores de este fruto tienen controversias sobre el momento de cosecha donde se aproveche mejor sus propiedades funcionales, esto nos motivó a realizar el presente estudio en tres estados de madurez: pintón, maduro y sobre maduro; para ello se planteó los siguientes objetivos:

- Caracterización físico química de la pulpa de noni en tres estados de madurez.
- Cuantificación de ácido ascórbico y polifenoles totales en el jugo de noni en tres estados de madurez.
- Evaluación de la actividad antioxidante en el jugo de noni en tres estados de madurez medido por su capacidad de inhibir radicales libres 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline – 6 ácido sulfónico) (ABTS^{o+}) y radical peroxilo.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

A. Generalidades del noni.

1. Aspectos generales.

El noni (*Morinda citrifolia* L.) es originaria del sureste de Asia y ha sido utilizada por habitantes de varias islas del Pacífico sur. Los primeros estudios datan de 1848 y tenían un fin comercial, el de encontrar tintes naturales para ropa de color amarillo, rojo y púrpura. En los años cincuenta del siglo XX comienzan las investigaciones médicas y empiezan las especulaciones de sus usos milagrosos. La fruta del noni podría convertirse en un efectivo agente curativo (NEYRA, 2006).

El noni es una fruta con propiedades extraordinarias utilizada por más de 2,000 años en la Polinesia, China, India y otras partes del mundo (ACOSTA, 2003). Varios investigadores alrededor del mundo han indagado sobre las acciones curativas del noni y de sus efectos beneficiosos en la purificación de la sangre, estimulación del sistema inmune, regulación de la función de las células, y regeneración de las células dañadas. Otras investigaciones han indicado que el noni tiene efectos analgésicos, antibiótico, anti-inflamatorio y anti-congestivo, puede ayudar a restaurar y regular el pH del cuerpo (SOLOMÓN, 1998). En muchos estudios que se efectúan sobre el noni están

implicadas sustancias propias de otras partes del vegetal, como las hojas, la raíz, las flores, las semillas y también la fruta verde (SERRA, 2006).

2. Descripción botánica.

La planta de noni es un arbusto, que está compuesta de un tallo principal de donde se desprenden cuatro ramas angulares y glabras. Las ramas secundarias poseen nudos separados de donde emergen los racimos florales. El máximo crecimiento y desarrollo del árbol de noni se observa en aquellas zonas del país donde se registran temperaturas diurnas entre 25 y 30 °C (ACOSTA, 2003). Las hojas son grandes de color verde oscuro, son elípticas, ovaladas opuestas entre si de 15 a 25 cm. de longitud, el florecimiento y fructificación del noni es continuo a lo largo de todo el año (NEYRA, 2006); los primeros frutos aparecen a los 8 meses de edad y en dos años ya se tiene una planta productiva de donde se obtienen varios subproductos (BAQUEDANO *et al.*, 2004).

3. Taxonomía.

NEYRA (2006) menciona que el noni (*Morinda citrifolia* L.) tiene la siguiente clasificación taxonómica:

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Orden	:	Gentianales
Familia	:	Rubiaceae

Género : Morinda
Especie : M. citrifolia
Nombre binomial : Morinda citrifolia L.

4. Características del fruto.

Los frutos se forman de flores independientes; es decir, de formación múltiple de masa compacta, blanda y jugoso, es de color verde en su etapa de formación y blanquecino o amarillo pálido cuando alcanza la maduración técnica, su longitud fluctúa de 4 a 8 cm. y el diámetro de 5 a 7 cm., la configuración es similar a la de una papa, el fruto maduro apto para el consumo posee un olor fuerte parecido al queso podrido. Las semillas son discoidales con una ligera forma elíptica y de color castaño se producen en disposición radial sobre el eje del carpelo, están cubiertas por un saco de protección que les permiten flotar en el agua (NEYRA, 2006).



Figura 1: Fruta de noni (*Morinda citrifolia* L.).

5. Componentes del noni.

ACOSTA (2003) menciona que sus propiedades se deben a la presencia de componentes activos tales como la xeronina, proxeronina, proxeronasa, damnacantal, escopoletina y aminoácidos. Por otro lado NEYRA (2006) también hace referencia de otros compuestos activos presentes en el noni, tales como: terpenos, antraquinones, aminoácidos, fitonutrientes, morindona, morindina, acubina, alzarina, ácido caproico y ácido caprilico. El noni es un fruto rico en polisacáridos, lo que unido a su contenido en vitaminas, especialmente C, carotenoides, bioflavonoides, minerales como magnesio, hierro, selenio, zinc, cobre, azufre, potasio y un contenido proteico de 4- 6% estos componentes le confieren una actividad nutricional y antioxidante notable contra los radicales libres. El noni posee también, por su composición, una actividad tónica general y antifatiga (SERRA, 2006).

Otros componentes del jugo de noni son los ácidos grasos, presentes en baja proporción, así como moléculas de la familia de los esteroides como el sitosterol y el estigmasterol, presentes en otras frutas tropicales como el aguacate, que tiene para el organismo humano una acción muy favorable en el exceso de colesterol (SERRA, 2006).

6. Composición fisicoquímica del noni.

SANTIAGO *et al.* (2008) realizaron análisis fisicoquímico (humedad, cenizas, proteína, grasa y carbohidratos), de la fruta seca de noni verde y maduro durante seis meses consecutivos. Los resultados fueron expresados en

g/100 g de muestra seca, obteniendo el siguiente reporte: Humedad ($87,12 \pm 0,25$; $85,04 \pm 0,02$), cenizas ($5,46 \pm 0,04$; $4,77 \pm 0,04$), grasa ($1,19 \pm 0,08$, $3,10 \pm 0,07$), proteína ($5,39 \pm 0,183$, $6,15 \pm 0,02$), carbohidratos ($0,83 \pm 0,04$; $0,96 \pm 0,08$).

B. Términos para determinar el estado de madurez de las frutas.

1. Madurez.

FAO/OMS (1984) establece que la madurez es el estado en que todo producto fresco esta listo para la cosecha cuando se ha desarrollado hasta alcanzar el momento ideal para el consumo. Desde el punto de vista botánico, madurez del fruto es aquel que ha completado su crecimiento activo (crecimiento vegetativo) y producción de semilla (madurez fisiológica). La madurez para la cosecha es el estadio en el que el producto puede ya cosecharse, teniendo en cuenta el tiempo necesario para llegar al mercado y el tipo de manipulación a que será sometido en el camino. POTTER (1978) menciona que el tiempo exacto para recolectar la fruta depende de varios factores: la variedad, ubicación, clima, facilidad de quitar la fruta del árbol y el propósito para el que ha sido prevista la fruta.

2. Maduración.

Según AGUSTÍ (2004), la maduración es el conjunto de cambios externos e internos como el sabor y la textura, que un fruto experimenta cuando completa su crecimiento. En esta fase de desarrollo del fruto cambia la coloración del pericarpio, disminuye el contenido de almidón, aumenta la

concentración de azúcares, se reduce el contenido de ácidos, hay pérdida de firmeza y otros cambios físicos y químicos. Superada esta etapa, el fruto pierde firmeza, aumenta su sensibilidad a las condiciones del medio, pierde el control metabólico e inicia su senescencia.

Por su parte SÁENZ (1993), define como una serie de cambios físicos y químicos que suceden en el tiempo asociados con el desarrollo de un órgano y que lo preparan para el cumplimiento de su función biológica. Cuando se refiere a frutos incluye los cambios comprendidos desde el momento en que se alcanza la madurez fisiológica y el momento en que alcanza el estado de fruto maduro.

3. Madurez comercial o de cosecha.

Según GALLO (1993), la madurez de cosecha o comercial es aquella etapa fisiológica en el desarrollo de la fruta en la cual se desprende del árbol y puede llegar a desarrollar su madurez de consumo. HAWTHORN (1983) menciona que la madurez comercial es simplemente las condiciones de un órgano de la planta requerida por un mercado, comúnmente guarda escasa relación con la madurez fisiológica y puede ocurrir en cualquier fase del desarrollo o envejecimiento. Por otro lado SÁENZ (1993) indica que la madurez comercial es el punto durante el desarrollo de un órgano en el cual este reúne las características necesarias para su consumo como alimento humano, para su uso industrial o cualquier otro uso económico y puede ser independientemente del grado fisiológico de madurez o desarrollo.

4. Madurez fisiológica.

WILLS (1984) indica que la madurez fisiológica suele iniciarse antes de que termine el crecimiento e incluye diferentes actividades en los distintos productos. También menciona que el crecimiento y la madurez fisiológica del fruto solo se completa cuando permanece este unida a la planta de que procede. Esto coincide con KADER (1992) que también menciona que el crecimiento y la maduración fisiológica de la fruta solo se completa cuando permanece unida a la planta de la cual procede, pero la madurez organoléptica y la senescencia pueden proseguir una vez separada de la planta. Según GALLO (1993) indica que la madurez fisiológica se conoce cuando la fruta se encuentra en su máximo estado de crecimiento y desarrollo y todas sus partes especialmente la semilla están maduras y aptas para su reproducción.

5. Madurez organoléptica.

WILLS (1984) menciona que la maduración organoléptica es un proceso dramático en la vida de la fruta, pero gustativamente atractivo, señala que es el final del desarrollo y el comienzo de su senescencia y además es ordinariamente un proceso irreversible. Las frutas se recogen solo fisiológicamente y organolépticamente maduras, pero algunas frutas que son consumidas como hortalizas se recolectan incluso antes de que la maduración haya comenzado. Por su parte GALLO (1993) indica que éste es el momento del desarrollo fisiológico del fruto cuando todas las características sensoriales propias de éste, como el sabor, color, aroma, textura y consistencia son completas y armónicas.

6. Estados de madurez.

Una de las maneras de abordar la identificación del estado de madurez es mediante la valoración de ciertas características químicas del producto (pH, acidez, fibra, almidón, sólidos solubles totales (SST), azúcares, entre otros), tales características están relacionadas con el grado de aceptabilidad comercial del producto (ARCILA *et al.*, 2002). Por otro lado WILLS *et al.* (1998) y REID (2002) indican que el cambio de color es la característica más notoria en muchas frutas durante su maduración y por ello se utiliza como criterio para definir el estado de madurez de una fruta. La transformación más importante es la degradación del color verde, la cual está asociada con la síntesis o desenmascaramiento de pigmentos cuyos colores oscilan entre el amarillo (carotenoides) y el rojo-morado (antocianinas) (KAYS, 2004).

Según lo expresado por MEDLICOTT *et al.* (1990), el color es la cualidad más notorio entre los cambios experimentales que ocurren en muchos frutos durante la maduración y con frecuencia el más importante de los criterios utilizados por los consumidores para decidir si el fruto está o no maduro. REID (2002) enfatiza que los parámetros (tamaño, color, firmeza, etc.) deben correlacionar bien con los cambios en los diferentes estados de madurez del fruto.

7. Índice de madurez.

La recolección demasiado temprana (frutos inmaduros), al igual que la recolección tardía (frutos sobremaduros), debe evitarse, no sólo por la calidad

del producto obtenido, sino además por los traumatismos que puede causar en la planta. Para el reconocimiento del momento óptimo de recolección se han establecido una serie de factores indicativos denominados 'índices de madurez', los cuales deben ser capaces de poner de manifiesto diferencias pequeñas. Así mismo, deben ser sensibles, prácticos, rápidos y de ser posible, estos índices deben ser cuantificables de manera que pueda expresar el grado de madurez mediante cifras que permitan establecer comparaciones con medidas que hagan otros observadores (PARRA y HERNÁNDEZ, 1997). Por su parte PRIMO (1997), afirma que durante la maduración de los frutos hay un aumento progresivo en la concentración de los sólidos solubles, sobre todo de azúcares y un descenso importante de la acidez, por esto, la relación brix/acidez aumenta cuando avanza la maduración y se toma universalmente como índice de madurez (I.M). POTTER (1978) indica que durante la maduración de los frutos los azúcares aumentan y los ácidos disminuyen. Por otro lado, AMOS (1968) y CHEFTEL y CHEFTEL (1980) manifiestan que en la maduración de los frutos se produce un descenso de la acidez en la mayoría de los frutos.

C. Radicales libres.

1. Definición.

Los radicales libres son especies químicas que poseen uno o mas electrones desapareados, capaces de existir de forma independiente (ARUOMA, 1994), que se producen en todas las células, y que presentan una gran inestabilidad. Son especies muy reactivas y con una elevada actividad

como aceptores de electrones, lo cual les convierte en potenciales productores de daño a diferentes moléculas del organismo (HALLIWELL, 1994).

ANDERSON y PHILLIPS (2001) mencionan que cualquier molécula o átomo que contiene uno o más electrones desapareados es un radical libre; por lo tanto, los radicales libres intentaran arrancar un electrón de otra molécula y en este proceso rompen otras parejas de electrones para conseguir su propio apareamiento creando así moléculas inestables generándose una reacción en cadena.

La vida media biológica del radical libre es de microsegundos, pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un gran daño a moléculas, membranas celulares y tejidos. Los radicales libres no son intrínsecamente tóxico; de hecho, nuestro propio cuerpo los produce en cantidades moderadas para luchar contra bacterias y virus (AVELLO y SUWALSKY, 2006).

Estas especies reactivas son implicadas, en muchas enfermedades incluyendo arterosclerosis desordenes del tracto respiratorio, enfermedades neurodegenerativas, inflamaciones y cáncer (ANDERSON y PHILLIPS, 2001; ELEJALDE, 2001).

Los procesos de oxidación producen radicales libres que pueden interferir en los procesos normales y dañar las células corporales causando

estrés oxidativo. El estrés oxidativo, se define como el desbalance entre la producción de radicales libres y la cantidad de antioxidantes presentes en el ambiente intracelular. Es la pérdida de equilibrio entre pro oxidación y antioxidación a favor de los pro oxidantes, (ELEJALDE, 2001 e INOE *et al.*, 2001). Se dice que ha ocurrido un daño oxidativo cuando el exceso de radicales libres causa daño celular. Muchas sustancias tóxicas son capaces de producir radicales libres y de disminuir nuestra defensa antioxidante, aumentando el estrés oxidativo (MURILLO, 2006).

a) Radical 1,1 difenil-2-picril-hidrazil (DPPH).

Es un radical libre estable y se utiliza como indicador para medir la capacidad de secuestro de cualquier compuesto que posea actividad antioxidativa. El principio del método del DPPH consiste en la sustracción de un átomo de hidrogeno proveniente de un fenol donador (ejemplo compuesto fenólicos) para generar el compuesto defenilpicrihidrazina y un radical fenoxil. En este proceso, la reacción desarrolla un cambio de color de violeta a amarillo a medida que disminuye la absorbancia detectable a 515 nm. (LEBEAU *et al.*, 2000).

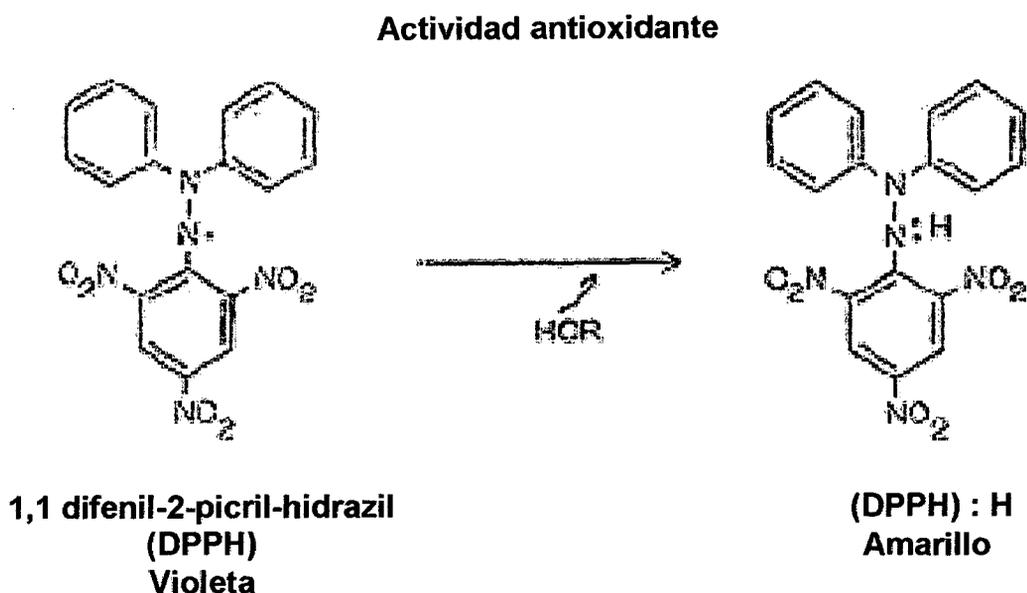


Figura 2: Química de la inhibición del radical libre por una especie antioxidante.

Según LEBEAU *et al.*, (2000).

**b) Radical 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline – 6 ácido sulfónico)
(ABTS^{•+})**

Entre los métodos utilizados para determinar la capacidad de un antioxidante para captar radicales libres, el radical ABTS^{•+} es uno de los más aplicados, al considerarse un método de elevada sensibilidad, práctico, rápido y muy estable; a pesar de esto los valores de actividad antioxidante pueden depender del tiempo escogido para efectuar la medida. La absorbancia medida por el método ABTS es determinada a los 1 y 7 minutos; los resultados obtenidos por algunos investigadores indican que la reacción con el radical ABTS^{•+} no se completa hasta pasado 1 minuto (KUSKOSKI *et al.*, 2005).

c) Radical peroxilo

El radical carbonilo sufre cambios moleculares originando un dieno conjugado (alquenos de dobles enlaces C=C alternos con enlaces simples C-C) y en presencia de oxígeno molecular origina el Radical Peroxilo.

El radical peroxilo toma un átomo de hidrógeno de otra molécula vecina, la cual puede ser otro ácido graso poliinsaturado formándose un Hidroperóxido y un nuevo radical lipídico. Entrando la peroxidación en fase de propagación. El grado de propagación de la reacción depende de la relación Lípido/Proteína, la composición de los ácidos grasos, de la concentración de oxígeno, de la presencia de antioxidantes y de los metales de transición como hierro y cobre (LEBEAU *et al.*, 2000).

2. ¿Donde se producen los radicales libres?

Se considera que la mitocondria es la fuente generadora de ERO (Especies Reactivas del Oxígeno) más importante (LACHANCE *et al.*, 2001); y el proceso biológico normal, es capaz de generar radicales libres oxigenados altamente reactivos (MURILLO, 2006). El incremento en la formación de O_2^- y H_2O_2 se justifica con el hallazgo que en el envejecimiento se modifica un flujo de electrones en la cadena de transporte de éstos (LACHANCE *et al.*, 2001). Los investigadores postulan que las ERO generados pueden producir daño tanto en la membrana interna de la mitocondria como a los componentes de la cadena de transporte de electrones o al ADN mitocondrial; este proceso en turno incrementa la producción de ERO y causa más daño a la mitocondria e

incremento del estrés oxidativo por aumentar la producción de oxidantes (BRODY, 1999).

3. Fuentes de producción de radicales libres.

Las fuentes de producción de radicales libres son diversas pudiendo tener origen exógeno o endógeno. Las fuentes exógenas pueden ser factores ambientales contaminantes, anestésicos o hidrocarburos aromáticos que se convierten en radicales mediante el metabolismo celular y los procesos de desintoxicación u otros agentes que ya poseen radicales libres como puede ser el humo del tabaco (MASON, 1982). Las radiaciones ionizantes, ultravioleta, visible o térmica, algunos productos químicos carcinógenos, también diversos medicamentos y drogas antitumorales pueden inducir la liberación de radicales libres como el acetaminofén, andriamicina, neomicina, polimixina B, kanamicina, gentamicina y el cloramfenicol, así como factores orgánicos y metabólicos (HALLIWELL *et al.*, 1995 y RODRÍGUEZ *et al.*, 2001). El herbicida paraquat, el solvente tetracloruro de carbono y el analgésico (contra el dolor) paracetamol; son ejemplos de sustancias químicas que inducen estrés oxidativo. Se cree que muchos de los efectos colaterales de los medicamentos se relacionan con un aumento en el daño oxidativo, ya que el estrés oxidativo severo puede causar la muerte de la célula (MURILLO, 2006). El consumo de aceites vegetales hidrogenados tales como la margarina y el consumo de ácidos grasos trans como los de las grasas de la carne y de la leche también contribuyen al aumento de los radicales libres (FINKEL y HOLBROOK, 2000).

4. Radicales libres derivados del oxígeno y otros.

En el cuadro 1 se muestran los diferentes tipos de radicales libres, derivados del oxígeno y otros causantes de muchos daños al organismo entre los que podemos destacar los siguientes:

Cuadro 1: Radicales libres derivados del oxígeno y otros.

Radical	Nombre	Características
$O_2^{\cdot -}$	Anión Superóxido	Es un radical poco reactivo pero potencialmente tóxico al poder generar otras ROS más tóxicas iniciando nuevas reacciones (a).
H_2O_2	Peróxido de Hidrógeno	No es considerado como un radical libre en sí, pero presenta gran facilidad para su difusión a través de las membranas. Es considerado como un pro-oxidante (a).
$\cdot OH$	Radical Hidroxilo	Es el más reactivo y se le ha relacionado con el daño sufrido directamente a las proteínas, membranas celulares, ADN y lípidos (b, c)
ROO^{\cdot}	Radical Peroxilo	Radicales más abundantes en los sistemas biológicos. Capaz de atravesar las membranas celulares e iniciar la peroxidación de los ácidos grasos de los fosfolípidos (a).
1O_2	Oxígeno Singlete	Es iniciadora de la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados (d), y puede también iniciar y/o propagar la oxidación del colesterol (e).
NO^{\cdot}	Oxido Nitrico	Es un gas lipofílico e hidrosoluble (a), Este es sintetizado a partir de la arginina por la enzima óxido nítrico sintetasa en las células endoteliales, los neutrófilos, las neuronas y las microglías (f).

Fuente: a) MUÑOZ (2007); b) ELEJALDE (2001); c) GONZALES-TORRES *et al.* (2000); d) ARUOMA *et al.* (1989); e) HALLIWELL (1994); f) KORC *et al.* (1995).

D. Antioxidantes.

1. Definición.

Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres, liberando electrones en la sangre que son captados por los radicales libres, manteniendo su estabilidad (AVELLO y SUWALSKY, 2006). Estos compuestos prolongan la vida útil de los alimentos, protegiendo contra el deterioro causado por la oxidación, evitando la rancidez de las grasas y los cambios de color (SIES, 1997). Deben estar presentes en el organismo en una concentración suficiente que permita prevenir la acumulación de elementos pro-oxidantes (HALLIWELL y GUTTERIDGE, 1985).

2. Función de los antioxidantes.

El antioxidante al reaccionar con el radical libre, le cede un electrón, oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre débil no tóxico, que en algunos casos, puede volver a su estado inicial mediante la actuación de otros antioxidantes (SIES y STAHL, 1995). Pueden actuar previniendo la formación de radicales libres, interceptando el ataque de las mismas, captando los metabolitos reactivos y convirtiéndolos en moléculas menos reactivas, facilitando la reparación del daño provocado y manteniendo un ambiente favorable para la actuación de otros antioxidantes (HALLIWELL y GUTTERIDGE, 1985). La importancia de los antioxidantes es crucial ya que brinda protección contra las enfermedades como la arteriosclerosis, degeneraciones ligadas al envejecimiento y el cáncer (SERRA y TRIBO, 1991).

3. Tipos de antioxidantes.

a. Antioxidantes endógenos o enzimáticos.

Los organismos vivos han diseñado estrategias genéticas para defenderse de las agresiones de los radicales libres se trata de los antioxidantes endógenos o enzimáticos que aceleran su inactivación como la superóxidodismutasa (SOD), cuya función parece ser la de eliminar específicamente el anión superóxido. La catalasa es una enzima que destruye el peróxido de hidrogeno transformándolo en H₂O (agua) y O₂ (oxígeno) (PAREDES y ROCA, 2002). El glutatión peroxidasa (GPX) reduce el hidroperóxido orgánico a agua y alcohol respectivamente utilizando el glutatión reducido (GSH) como donante de electrones (KETTERER, 1986). La melatonina es un antioxidante potente que altera la actividad de las enzimas superóxidodismutasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa e inhibe la actividad de la sintasa de óxido nítrico. Se ha reportado que la melatonina es capaz de neutralizar el radical hidroxilo, radical peróxilo, oxígeno singlete, óxido nítrico y proteínas oxidadas, mientras que los estrógenos neutralizan radicales libres lipofílicos, disminuyendo la peroxidación lipídica de las membranas celulares (VELÁSQUEZ *et al.*, 2004).

b. Antioxidantes exógenos o no enzimáticos.

Los antioxidantes no enzimáticos constituyen un heterogéneo grupo de moléculas hidrófobas e hidrófilas que capturan radicales libres y originan especies químicas menos nocivas para la integridad celular. En esencia, el mecanismo de acción involucrado es la donación de un electrón a un radical

libre con el fin de estabilizarlo. Los antioxidantes no enzimáticos hidrofílicos se ubican principalmente en el citosol, matriz mitocondrial, nuclear y en fluidos extracelulares; estos incluyen vitamina C, glutatión, ácido úrico, ergotioneina y flavonoides polifenólicos (CHIHUAILAF *et al.*, 2002).

c. Antioxidantes artificiales.

Ya se han comenzado a emplear en la medicina antioxidantes artificiales entre las que destacan la N-acetilcisteína, el dimetilsulfóxido (DMSO), la etildimetiltiourea y el etanol. Estos poseen actividad antirradicales libres y pueden neutralizar el efecto del pernicioso radical hidroxilo (OH) (PAREDES y ROCA, 2002).

4. Ácido ascórbico (Vitamina C).

a. Definición.

El ácido ascórbico también denominado vitamina C, es un compuesto altamente polar, soluble en agua e insoluble en medios lipídicos (SENTURK *et al.*, 2005). Dentro de los roles que posee, se encuentra la síntesis de colágeno (componente estructural importante en los vasos sanguíneos, tendones, ligamentos y huesos). También juega un rol importante en la síntesis de norepinefrina (crítico neurotransmisor para la función cerebral). Además, la vitamina C se requiere para la síntesis de carnitina (pequeña molécula esencial en el transporte de grasas a los organelos celulares llamados mitocondrias), para la conversión de energía (MAHAN y ARLIN, 1992).

SERRA y TRIBO (1991) indica que ésta vitamina se encuentra en mayor cantidad en frutas y hortalizas frescas y crudas tales como las fresas, grosella, acerola, los cítricos, el pimiento, perejil, nabo, también se puede encontrar en el hígado, riñón y leche, siempre y cuando la cocción u otras manipulaciones no la hayan destruido. Según TRIBO (1994) las necesidades orgánicas diarias son de 45 mg/día, que son cubiertos habitualmente por una normal alimentación y por su parte SERRA y TRIBO (1991) manifiestan que la FDA precisa entre 60 – 100 mg/día; sin embargo, en determinadas circunstancias son necesarios aportes mas elevados, como es el caso luego de intervenciones quirúrgicas, procesos infecciosos y fumadores.

Debido a que esta vitamina es un ácido, es razonablemente estable en soluciones ácidas, pero en soluciones básicas o neutrales es fácil y rápidamente oxidada por oxígeno disuelto. La oxidación de la vitamina C, ácido ascórbico, ocurre por la pérdida de dos átomos de hidrógeno, según la molécula es convertida en ácido dehydroascórbico (Fig. 2) (SOTO, 2005).

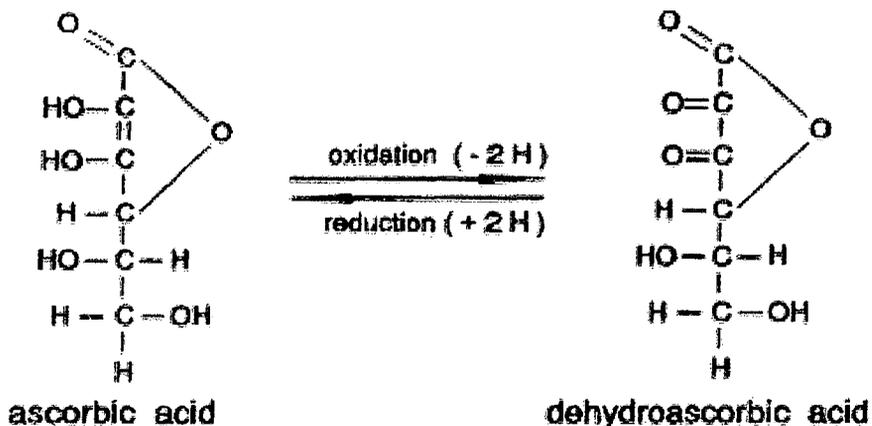


Figura 3: Molécula de Ácido ascórbico oxidada y reducida (SOTO, 2005).

b. Comportamiento del ácido ascórbico en frutas durante la maduración.

La disminución en los niveles de ácido ascórbico durante la maduración puede estar asociada a su alta tasa respiratoria, en las que se genera EROS. En este panorama, enzimas como ascorbato peroxidasa y ascorbato reductasa, encargadas de detoxificar las células, pueden jugar un papel importante al usar el ácido ascórbico como sustrato. Por otro lado, el ácido ascórbico como tal puede actuar como antioxidante interactuando directamente con este tipo de especies, con la consecuente disminución de sus niveles (VARGAS *et al.*, 2005).

c. Efecto antioxidante del ácido ascórbico.

El ácido ascórbico es el principal antioxidante hidrosoluble y actúa como la primera defensa contra los radicales libres, ejerce sus efectos benéficos fundamentalmente en los compartimientos acuosos de las células, en la sangre completa y el plasma (TORRES *et al.*, 2002 y DIPLOCK, 1991). Es considerada como un antioxidante altamente efectivo. Aún en cantidades pequeñas, esta vitamina puede proteger moléculas indispensables en el cuerpo, tales como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y ácidos nucleicos (DNA y RNA). Ésta los protege de daños causados por radicales libres (moléculas altamente reactivas con oxígeno) o por especies de oxígeno reactivo que puede ser generado por el metabolismo normal o por exposición a toxinas y contaminantes (CARR y FREI, 1999). Se ha demostrado que el ácido ascórbico es un aceptor de radicales libres muy efectivo frente a superóxido,

peróxido de hidrógeno, hidrociorato, radical hidroxilo, radical peroxilo y oxígeno singulete. El ácido ascórbico puede actuar frente a la peroxidación lipídica secuestrando el radical peroxilo en la fase acuosa antes de que pueda acceder a la membrana lipídica de las lipoproteínas (POKORNY *et al.*, 2001). También actúa sobre el radical libre tocoferoxilo regenerando la vitamina E (CHIHUAILAF *et al.*, 2002). Por su parte VILAPLANA (2007) en su publicación menciona que se ha comprobado experimentalmente que la vitamina C inhibe la formación de nitrosaminas cancerígenas. También algunos estudios sugieren la posibilidad de tratamiento con ácido ascórbico para algunos tipos de cáncer (de vejiga, pulmón, etc.). El ácido ascórbico puede actuar de manera individual como también cooperativamente, así, cuando la vitamina C se asocia con el tocoferol, este último atrapa al radical y el ácido ascórbico restaura el tocoferol (TORRES *et al.*, 2002). En la tecnología de los alimentos el ácido ascórbico se utiliza cada vez más como antioxidante y estabilizante de los alimentos (MATISSEK *et al.*, 1998).

d. Degradación del ácido ascórbico.

La degradación del ácido ascórbico y el pardeamiento que origina se pueden producir tanto en ausencia como en presencia de oxígeno. Además la formación de anhídrido carbónico que acompaña el pardeamiento no enzimático por degradación del ácido ascórbico, puede provocar el bombeo de envases con zumos concentrados de agrios, frutas, que, como se sabe, son especialmente ricas en vitamina C (CHEFTEL y CHEFTEL, 1976). El ácido ascórbico en medio neutro o alcalino, a temperaturas elevadas y en presencia

de iones metálicos pesados es muy sensible a la oxidación: pueden producirse pérdidas de vitamina C durante los procesos culinarios (MATISSEK *et al.*, 1998).

5. Polifenoles.

a. Definición.

Los compuestos fenólicos son metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas, son un gran grupo de antioxidantes naturales; el consumo de fuentes importantes, particularmente de frutas, vegetales y cereales presentan efectos benéficos. La asociación entre una dieta rica en frutas y vegetales está relacionada a una disminución de riesgo de enfermedades cardiovasculares, y ciertas formas de cáncer, según evidencias epidemiológicas (MUÑOZ *et al.*, 2007). Son sustancias polifenólicas de bajo peso molecular y poseen diferentes estructuras químicas y actividad (MARTÍNEZ – VALVERDE *et al.*, 2000). Los flavonoides son los compuestos polifenólicos mejor estudiados que se caracterizan por tener una estructura de tres anillos formada de dos centros aromáticos y un heterociclo central oxigenado. Dentro de los flavonoides se incluyen a las flavonas, flavanonas, catequinas y antocianinas (DRAGO *et al.*, 2006). Muchos estudios han demostrado que las catequinas y flavonoides son fuentes de protección por sus propiedades antioxidantes (GONZÁLES *et al.*, 2001). La naturaleza de los polifenoles varia desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta compuestos altamente polimerizados como los taninos (MARTÍNEZ – VALVERDE *et al.*, 2000).

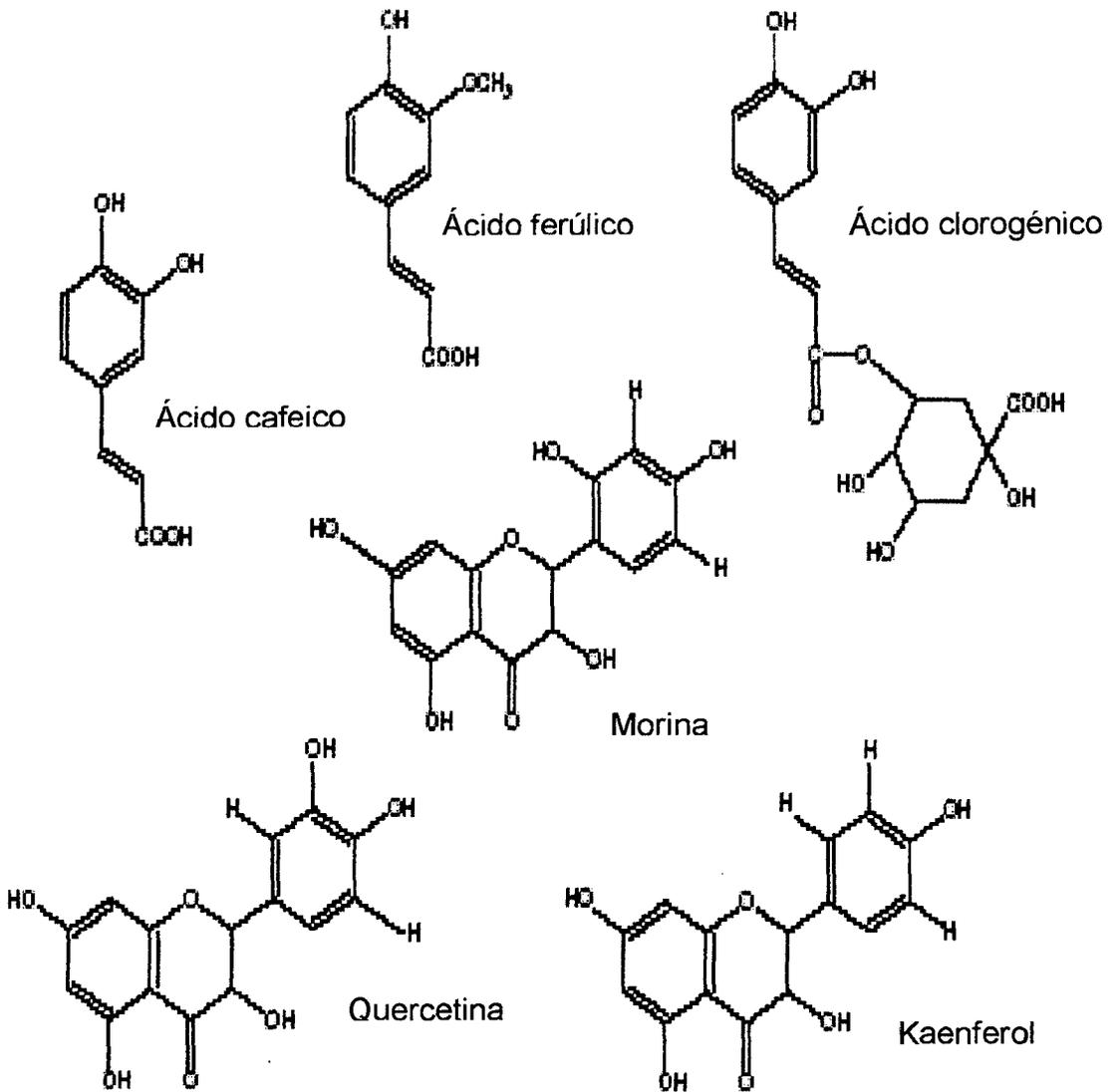


Figura 4: Algunos compuestos fenólicos presentes en alimentos (GONZÁLES *et al.*, 2001).

b. Compuestos fenólicos y su actividad antioxidante.

La capacidad antioxidante descrita para distintos polifenoles se puede considerar como la actividad biológica responsable del efecto preventivo que se les atribuye sobre determinadas enfermedades frecuentes en los países desarrollados como la enfermedad cardiovascular y el cáncer epitelial.

El comportamiento antioxidante de los compuestos fenólicos parece estar relacionado con su capacidad para quelar metales, inhibir la lipoxigenasa y captar radicales libres. Para que un compuesto fenólico sea clasificado como antioxidante debe cumplir dos condiciones básicas. La primera es que cuando se encuentre en una concentración baja con relación al sustrato que va ser oxidado pueda retrasar o prevenir la autooxidación o la oxidación medida por un radical libre. La segunda es que el radical formado tras el secuestro sea estable y no pueda actuar en oxidaciones posteriores. Entre los compuestos fenólicos con una reconocida actividad antioxidante destacan los flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, calconas y curaminas (MARTÍNEZ – VALVERDE *et al.*, 2000).

c. Efecto de los compuestos fenólicos en la calidad organoléptica de los alimentos.

Los compuestos fenólicos intervienen en las características organolépticas de las frutas y verduras, al intervenir en gran medida en el color natural y en el sabor que estas poseen.

Los flavonoides son los responsables del color natural de los alimentos. Entre ellos las antocianinas son los responsables de los colores rosa, escarlata, rojo, malva, azul y violeta de los vegetales, zumos de frutas y vinos. Las antocianinas son compuestos muy inestables, por lo que la pérdida de su color se puede producir durante el procesado, almacenamiento y congelación de las distintas frutas y vegetales. Las flavononas son los

compuestos responsables del sabor amargo en los cítricos. Otros compuestos fenólicos, entre los que destaca el ácido clorogénico, han sido asociados al sabor amargo de la cerveza, el vino y la sidra. Las proantocianidinas o taninos condensados constituyen la principal fracción fenólica responsable de las características de astringencia de los alimentos vegetales. El pardeamiento de las frutas y vegetales está también relacionada con el contenido de compuestos fenólicos. Así la formación de pigmentos amarillos y marrones durante la manipulación y procesamiento de los alimentos vegetales, está controlada por los niveles de polifenoles, la presencia de oxígeno y la actividad de la polifenol oxidasa forman agua y quinona, compuesto responsables de los pigmentos amarillos y marrones (MARTÍNEZ – VALVERDE *et al.*, 2000).

d. Fuentes de compuestos fenolíticos en la dieta.

La principal fuente de antioxidantes naturales son las frutas y vegetales los cuales contienen compuestos fenólicos en abundancia. Estos compuestos están estrechamente asociados con el color y sabor de los alimentos de origen vegetal, así como con su calidad nutricional por sus propiedades antioxidantes comprobados (MARTÍNEZ – VALVERDE *et al.*, 2000). La mayoría de las plantas contienen polifenoles los cuales están presentes en cantidades diferentes dependiendo de la planta y del grupo de compuesto fenólico estudiado, diferenciándose estos contenidos de acuerdo a la parte del vegetal que se trate, bien sea fruto, hoja o parte leñosa de la planta (SHAHIDI y NACZK, 1995). En legumbres y cereales los principales compuestos fenólicos son los flavonoides, ácidos fenólicos y taninos (BRAVO,

1998). Los vegetales poseen una amplia variedad de compuestos fenólicos dependiendo de la especie. De forma global, HERTOG *et al.* (1992), encontraron entre un total de 28 vegetales analizados, que los principales flavonoides presentes en ellos eran la quercitina seguida del kaempferol. Las frutas destacan en la dieta por su alto contenido en flavonoles, conteniendo también cantidades considerables de otros compuestos fenólicos dependiendo del tipo de fruta analizada (FERRERES *et al.*, 1997).

e. Ingesta de compuestos fenólicos.

Actualmente, existe poca información disponible sobre el consumo de compuestos fenólicos en la dieta. HERTOG y HOLLMAN (1996) estimaron que la ingesta media de flavonoles y flavonas combinadas es aproximadamente 23 mg/día, usando los datos obtenidos por ellos mismos en combinación con datos de consumo en Holanda proporcionados por el National Food Consumption Survey 1987 – 1988. Así, las principales fuentes de flavonoides y flavonas en Holanda fueron el té negro (48% de la ingesta total), cebolla (29%) y manzanas (7%). Es por tanto necesario que las tablas de composición de los alimentos incluyan datos sobre el contenido en compuestos fenólicos de interés nutricional de los alimentos con el objetivo de poder cuantificar la ingesta real de los mismos (MARTÍNEZ – VALVERDE *et al.*, 2000).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Lugar de ejecución.

El trabajo de investigación se ejecutó en los laboratorios del Centro de Investigaciones de Productos Naturales de la Amazonia (CIPNA) y Análisis de Alimentos de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, en Tingo María; ubicado en el distrito de Rupa Rupa, Provincia de Leoncio Prado, Departamento de Huanuco; a una altitud de 660 m.s.n.m., a 09° 17' 08" de Latitud Sur, a 75° 59' 52" de Latitud Oeste, con clima tropical húmedo y con una humedad relativa media de 84 % y temperatura media anual de 24 °C.

B. Materia prima.

El noni (*Morinda citrifolia* L.) fue obtenido del Fundo Granjas Asociadas que esta ubicado en la carretera marginal (Tingo María – Aucayacu) a 2 Km. de la localidad de Aucayacu, distrito de José Crespo y Castillo, Provincia de Leoncio Prado, Departamento de Huánuco. La parcela de plantación comprende aproximadamente de 1800 m² con 173 plantas en producción y una edad promedio de 2 años. La fruta fue cosechada en estado pintón, maduro y sobremaduro y fueron trasladados al laboratorio para su posterior análisis.

C. Equipos, materiales y reactivos

1. Equipos de Laboratorio.

- Balanza analítica OHAUS Galaxy 160 sensibilidad 0.0001g Germany.
- Cocina eléctrica de plataforma Barnstead / Thermolyne. U. S. A.
- Refrigeradora Icebeam Door Cooling LG GR-5392QLC.
- Desionizador de agua modelo D 7035 (Barnstead) Germany.
- Espectrofotómetro Genesys 6 (Thermo Electrón Corporation) U. S. A.
- Homogenizador modelo VORTEX GENIE-2 (Scientific industries SI™) U. S. A.
- Centrifuga modelo MIKRO R22 (Hettich Zentrifugen) Germany.
- Baño maría modelo YCW-010E (Associated With Cannic, Inc, USA)
- Extractor de jugos marca IMACO
- Digestor de proteína. Digest Automat K-438 BÜCHI labortechnik. AG.
- Equipo Soxhlet, Gerhardt. Germany.
- Bureta automática.
- Horno Mufla LABOR Műszeripari Művek temperatura regulable de 250 °C a 900 °C.
- Secador cilíndrico LABOR Műszeripari Művek temperatura regulable de 40 °C a 250 °C.
- Potenciómetro de Inolab. Co, Alemania
- Refractómetro LABOR MIN, Hungria

2. Materiales de laboratorio.

- Tubos de plástico con tapa de 15 y 20 mL.

- Cubetas de poliestireno, Gene Mate (1cm x 1cm x 4.5cm)
- Tubos de ensayo Pirex USA.
- Microtubos (1.5 – 2.0 mL.)
- Vasos de precipitación (1000 mL., 500 mL., 100 mL., 50 mL., 10 mL.)
- Fiolas (1000 mL., 500 mL., 100 mL., 50 mL., 10 mL.)
- Gradillas
- Probetas de 10, 100 y 500 mL.
- Termómetros
- Tips de 200 y 1000 ul.
- Micropipetas regulables de 10 – 100 μ l y de 100 – 1000 μ l.
- Matraces erlenmeyer de 50 y 250 mL. Kimax USA
- Campana de desecación con perlas de silicagel.
- Cisoles de porcelana, cap. 50 ml. Haldenwanger Berlín.
- Papel filtro Watman N° 42
- Espátulas metálicas.

3. Reactivos y solventes.

- Metanol al 96 %.
- Agua destilada desionizada (H₂O_{dd}).
- 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), 90%. Sigma Chemical.
- 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline – 6 ácido sulfónico) (ABTS⁺), 98%. Sigma Chemical.
- Persulfato de Potasio (K₂S₂O₈) p.a. Sigma Chemical.
- 2,2-azobis(2-amidino-propane) dihydrochloride (ABAP), Wako

Chemicals. U. S. A.

- PBS-Solución buffer (50mM fosfato; 0,9% NaCl, pH 7,4).
- 2,6 Dichloroindophenol Sodium Salt Hydrate – DFIF (C₁₂H₆Cl₂NNaO₂) Sigma Chemical.
- L(+)-ácido ascórbico QP, Sigma Chemical.
- Acido oxálico dihidratado p.a. ASC, ISO. Sigma Chemical.
- (+)-catequin, Hydrate minimum 98%. Sigma Chemical.
- Folin-ciocalteus, Merck. Germany.
- Carbonato de Sodio (Na₂CO₃) p.a. ISO. Scharlau.
- Hexano p.a. Merck. Germany.
- Acido sulfúricos 95 – 97% p.a. Merck. Germany.
- Hidróxido de sodio (NaOH) em lentejas p.a. ISO. Merck. Germany.
- Ácido clorhídrico fumante 37% p.a. Merck. Germany.

D. Métodos de análisis

1. Análisis físico químico.

- a. **Humedad**, método 23.003 AOAC (1997).
- b. **Proteína**, método 991.29 AOAC (1997).
- c. **Grasa**, método 935, 60 AOAC. (1997).
- d. **Fibra**, método 930.20 AOAC (1997).
- e. **Cenizas**, método 942.50 de calcinación directa AOAC (1997).
- f. **Carbohidratos**, se determinó por diferencia de los demás componentes del análisis físico químico (HART y FISHER, 1991).
- g. **pH**, método 973.193 AOAC (1964).

E. Metodología experimental

1. Análisis físico químico de la pulpa noni en tres estados de madurez.

Se realizó el análisis físico químico de la pulpa de noni siguiendo los métodos ya descritos en el ítem métodos de análisis.

2. Preparación de la muestra.

Una vez obtenida la fruta de noni (*Morinda citrifolia L.*) en el laboratorio, estas fueron lavadas y separadas los pintones, maduros y sobre maduros para la obtención del jugo de la fruta de los tres estados de madurez, estas fueron cortadas en trozos pequeños para extraer las semillas, luego para el pintón se utilizó un extractor para obtener el jugo el cual fue recibido en un vaso de precipitado. Para el caso de la fruta madura y sobremadura se procedió a cortar en partes muy pequeñas, se colocó en una gasa y se presionó para obtener el jugo. Una vez obtenido el jugo estas fueron diluidas con metanol al 96% en una concentración de 10 ml de metanol con 3 ml de jugo (300 mg/ml). Esta primera concentración es agitada y separada en microtubos para ser sometido a centrifugación a una velocidad de 10,000 rpm durante 5 minutos a una temperatura de 20°C. A partir de esta concentración se prepararon las demás concentraciones de 100, 30 y 10 mg/ml.

3. Cuantificación de ácido ascórbico en el jugo de noni en tres estados de madurez.

a. Preparación de la curva estándar.

Para determinar la curva estándar del ácido ascórbico se utilizó el ácido ascórbico químicamente puro, las concentraciones que se usaron fueron desde 25 a 200 ug/ml. y la absorbancia fue leída a 515 nm. De los resultados obtenidos de absorbancia Vs concentración se procedió a realizar el cálculo de la ecuación matemática para determinar el contenido de vitamina en el jugo de noni y también para determinar el coeficiente de correlación.

b. Cuantificación de ácido ascórbico.

Se hizo reaccionar 100 µl de la muestra de mayor concentración (300 mg/ml) con 900 µl de 2,6 diclorofenolindofenol, registrándose la absorbancia a 515 nm, obteniéndose las cantidades de ácido ascórbico con la siguiente ecuación:

$$A_{515nm} = A_{control} - A_{muestra}$$

Donde A es la Absorbancia.

Los resultados fueron analizados mediante el diseño completamente al azar (DCA) en los tratamientos donde exista diferencia estadística se procedió a determinar la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

4. Cuantificación de polifenoles totales en el jugo de noni en tres estados de madurez.

a. Determinación de la curva estándar de polifenoles totales.

Para determinar la curva estándar de polifenoles totales se utilizó (+)- catequina de 0.1mM, las concentraciones que fueron ploteados son 10, 30, 100, 300, 1000, 3000 y 10000 $\mu\text{g/ml}$ y la absorbancia fue leída a 700 nm. De los resultados obtenidos de absorbancia Vs concentración se procede a realizar el cálculo de la ecuación matemática para cuantificar polifenoles y determinar el coeficiente de correlación.

b. Cuantificación de polifenoles totales.

Para la cuantificación de polifenoles totales se utilizó la muestra de mayor concentración (300 mg/ml). En un tubo de ensayo se colocó 1580 μl de agua destilada, 20 μl de muestra, 100 μl de solución de fenol folin Ciocalteu y finalmente 300 μl de Carbonato de Sodio (Na_2CO_3) al 20%; para completar la reacción se dejó reposar 2 horas a temperatura ambiente. Luego se monitoreó la absorbancia a 700 nm y en base a la curva patrón se determinó la cuantificación de polifenoles expresado en mg de catequina/100 ml de jugo. Los resultados fueron analizados mediante el diseño completamente al azar (DCA) en los tratamientos donde exista diferencia estadística se procedió a determinar la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

5. Evaluación de la actividad antioxidante en el jugo de noni en tres estados de madurez

Para la evaluación de la capacidad antioxidante se realizó las siguientes pruebas:

a. Capacidad de Inhibición del radical 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH).

Para la determinación de la capacidad antioxidante por el método del DPPH, se usó el reactivo 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) el que se disolvió en metanol al 96%, este radical libre (DPPH) es estable y se utiliza como indicador para medir la capacidad de secuestro de cualquier compuesto que posea actividad antioxidante. El principio del método DPPH consiste en la sustracción de un átomo de hidrógeno proveniente de un donador (extractos) para generar el compuesto difenylpicrylhidrazine y una especie radical. En este proceso, la reacción desarrolla un cambio de color violeta a amarillo a medida que disminuye la absorbancia. Las concentraciones en las diluciones de jugo de noni usados en las reacciones fueron de 10, 30, 100 y 300 mg/ml. La reacción se generó en una cubeta de poliestireno (1 cm x 1 cm x 4,5 cm), con un volumen de 25 μ l de muestra y 975 μ l de radical DPPH. Luego inmediatamente se procedió a la lectura de absorbancia en un espectrofotómetro, las lecturas se registraron a 515 nm cada 30 segundos por espacio de 5 minutos. El porcentaje de inhibición del radical DPPH fue calculado con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición DPPH} = [(Ac - Am)/Ac] \times 100$$

Donde:

Ac: Absorbancia de los controles.

Am: Absorbancia de la muestra en función del tiempo (5 minutos).

La actividad antioxidante fue expresados en IC₅₀ para ello se ploteó concentración versus porcentaje de inhibición con las cuales se obtuvo una curva de ajuste del tipo lineal sobre la cual se determinó el valor del IC₅₀. Los resultados fueron analizados mediante el diseño completamente al azar (DCA) y en los niveles donde exista significación estadística se aplicó la prueba de Tukey (p<0,05).

b. Capacidad de inhibir el catión 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline – 6 ácido sulfónico) (ABTS^{o+})

Según la metodología desarrollada por PELLIGRINI *et al.* (1999) el radical ABTS^{o+} se formó tras la reacción de ABTS (7mM) con persulfato potásico (140mM, concentración final) incubados a temperatura ambiente y en oscuridad durante 16h. Una vez formado el radical ABTS^{o+} se diluyó con metanol hasta obtener un valor de absorbancia entre 0,7 a 1.2. Las concentraciones de jugo de noni que se usaron para las reacciones fueron de 10, 30, 100 y 300 mg/ml. La reacción se generó en una cubeta de poliestireno (1 cm x 1 cm x 4,5 cm), con un volumen de 10 µl de muestra y 990 µl del radical ABTS^{o+}. La disminución de la absorbancia fue registrada a 734 nm cada

30 segundos por espacio de 5 minutos. El porcentaje de inhibición del radical fue calculado con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición ABTS}^{\text{o}+} = [(Ac - Am)/Ac] \times 100$$

Donde:

Ac: Absorbancia de los controles.

Am: Absorbancia de la muestra en función del tiempo (5 minutos).

La actividad antioxidante fue expresados en IC₅₀ para ello se ploteó concentración versus porcentaje de inhibición con las cuales se obtuvo una curva de ajuste del tipo lineal sobre la cual se determinó el valor del IC₅₀. Los resultados fueron analizados mediante el diseño completamente al azar (DCA) y en los niveles donde exista significación estadística se aplicó la prueba de Tukey (p<0,05).

c. Capacidad de inhibir el radical peroxilo

Los radicales peroxilos son generados por 2,2-azobis (2-amidopropano) hidrocloreto (ABAP), generando un compuesto de color verde debido a la formación estable de radical catiónico 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline – 6 – ácido sulfónico) (ABTS). Se preparó una solución de 2,25mM ABTS y 20mM ABAP en PBS buffer (50mM fosfato; 0,9% NaCl, pH 7,4) y luego se incubó a 70°C a baño maría por 20 minutos.

Las concentraciones de jugo de noni evaluadas fueron de 10, 30, 100 y 300 mg/ml. Se tomó 10µl de muestra y se adicionó 990 µl de radical peroxilo. La lectura se realizó a 414nm cada 30 segundos por 5 minutos. La capacidad de secuestro del radical peroxilo fue determinado por la siguiente expresión:

$$\% \text{ Inhibición PEROXILO} = [(Ac - As)/Ac] \times 100$$

Donde:

Ac : Absorbancia de control.

As : Absorbancia de la muestra en función al tiempo (5 minutos).

La actividad antioxidante fue expresados en IC₅₀ para ello se ploteó concentración versus porcentaje de inhibición con las cuales se obtuvo una curva de ajuste del tipo lineal sobre la cual se determinó el valor del IC₅₀. Los resultados fueron analizados mediante el diseño completamente al azar (DCA) y en los niveles donde exista significación estadística se aplicó la prueba de Tukey (p<0,05).

El diseño experimental planteado en la presente investigación fue la siguiente:

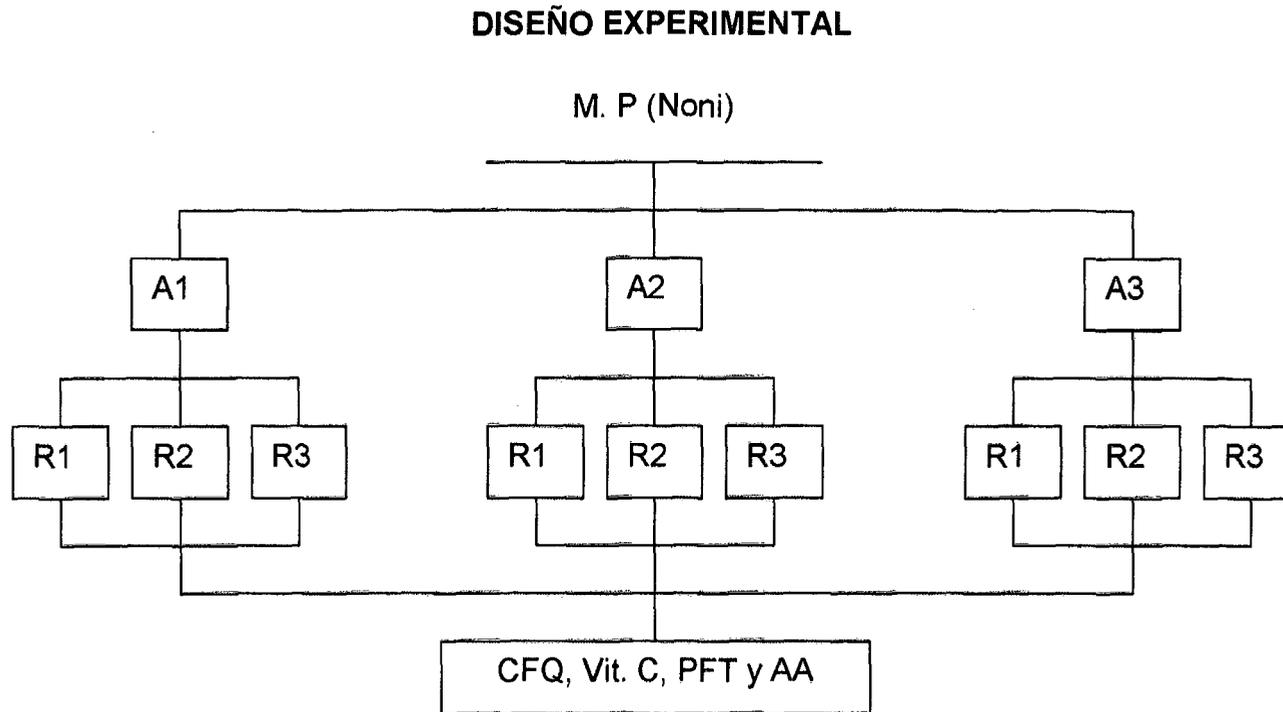


Figura 5: Diseño experimental para la evaluación físico-química, vitamina C, polifenoles y actividad antioxidante del noni.

Donde:

M. P = Materia prima (noni)

A1, A2, A3 = Estados de madurez (pintón, maduro y sobre maduro)

R1, R2 y R3 = Repeticiones

CFQ = Composición físico químico

Vit C = Cuantificación de vitamina C

PFT = Cuantificación de polifenoles totales

AA = Actividad antioxidante (DPPH, ABTS^{o+}, Peroxilo).

IV. RESULTADOS

A. Análisis físico químico de la pulpa de noni en tres estados de madurez.

Los resultados del análisis físico químico de la pulpa de noni en los diferentes estados de madurez se presentan en el siguiente cuadro.

Cuadro 2: Resultados del análisis físico químico de la pulpa de noni en tres estados de madurez.

Determinaciones	Estados de madurez		
	Pintón	maduro	sobre maduro
Humedad (%)	85,95±0,26 ^a	84,97±0,11 ^b	84,43±0,17 ^b
Proteína (%) (N x 6.25)	5,53±0,01 ^a	4,95±0,01 ^b	4,95±0,01 ^b
Grasa (%)	0,37±0,01 ^a	0,38±0,03 ^a	0,36±0,03 ^a
Fibra (%)	5,97±0,01 ^a	5,26±0,09 ^b	4,83±0,04 ^c
Ceniza (%)	1,18±0,01 ^a	0,79±0,02 ^b	0,47±0,01 ^c
Carbohidratos (%) *	0,96 ^c	3,62 ^b	4,92 ^a
pH	4,7 ^a	4,1 ^b	4,0 ^b
Sólidos solubles (°Bx)	8,26±0,03 ^c	9,76±0,03 ^b	11,76±0,02 ^a
Acidez titulable (%) **	0,29±0,01 ^c	0,35±0,01 ^b	0,59±0,01 ^a
Índice de madurez	27,71±0,46 ^a	27,83±0,29 ^a	19,64±0,03 ^b

Los valores representan (promedio ± SEM) los datos provienen del experimento (n=3) valores de una misma fila con superíndices diferentes son significativos. (p<0,05)

* Por diferencia.

** Expresado en % de ácido cítrico.

B. Cuantificación de ácido ascórbico en el jugo de noni en tres estados de madurez.

1. Determinación de la curva estándar de ácido ascórbico.

La cuantificación de ácido ascórbico se realizó a partir de una curva estándar utilizando como patrón ácido ascórbico leídos a 515nm.

Cuadro 3: Lectura de la absorbancia a partir de la concentración de ácido ascórbico.

Concentrac. Ug Ac.Asc/ml	Absorbancia (515 nm)						Prom.
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	
25	0,097	0,108	0,092	0,110	0,068	0,088	0,094
50	0,216	0,221	0,209	0,223	0,199	0,219	0,215
75	0,295	0,312	0,309	0,346	0,352	0,364	0,330
100	0,434	0,442	0,445	0,468	0,425	0,434	0,441
125	0,505	0,522	0,519	0,543	0,527	0,548	0,527
150	0,652	0,662	0,681	0,693	0,674	0,675	0,673
175	0,768	0,767	0,762	0,765	0,818	0,798	0,780
200	0,827	0,874	0,882	0,901	0,819	0,835	0,856

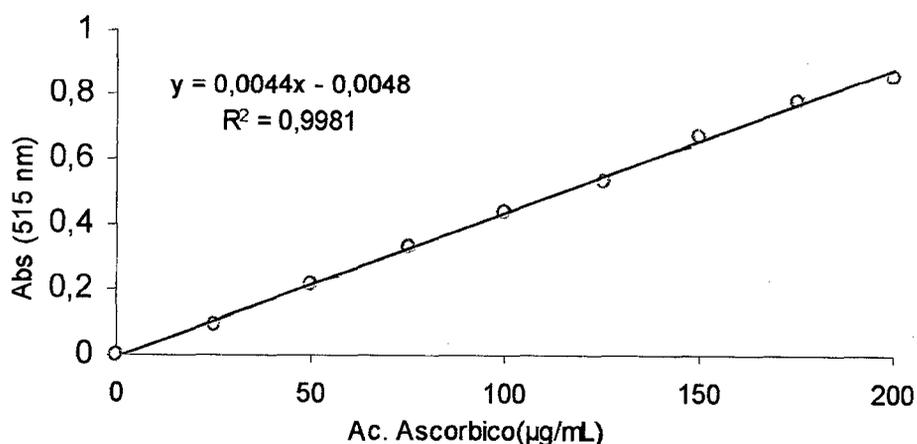


Figura 6: Curva estándar para la cuantificación de ácido ascórbico.

2. Cuantificación de ácido ascórbico.

En el siguiente cuadro y figura se presenta los resultados de la cuantificación del ácido ascórbico en el jugo de noni en los diferentes estados de madurez.

Cuadro 4: Contenido de ácido ascórbico en el jugo de noni en los tres estados de madurez.

Estado de madurez	mg. AA*/100 ml Jugo
Pintón	224,376±0,41 ^b
Maduro	252,975±1,87 ^a
Sobre Maduro.	219,575±0,28 ^b

(*) AA= ácido ascórbico

Los valores representan (promedio ± SEM) los datos provienen del experimento (n=9) valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos. (p<0.05).

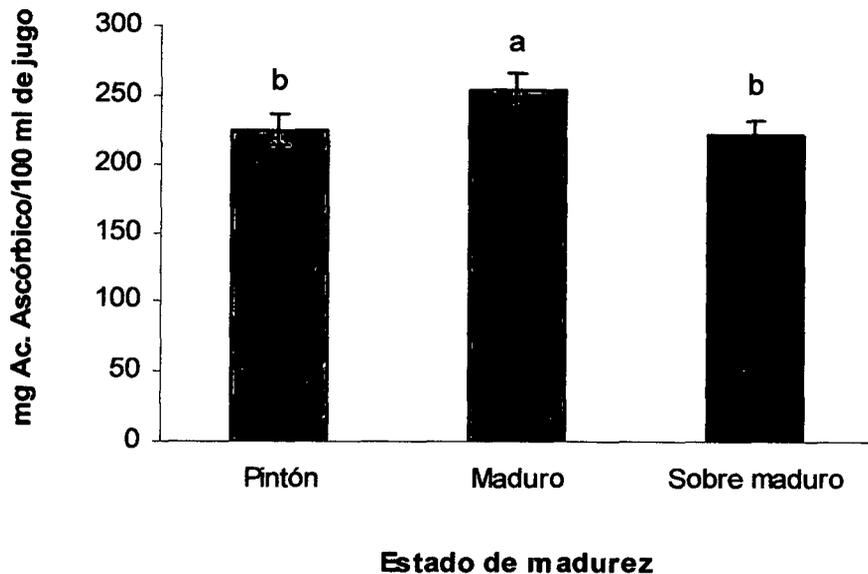


Figura 7: Comportamiento del contenido de ácido ascórbico en el jugo de noni en tres estados de madurez.

C. Cuantificación de polifenoles totales en el jugo de noni en tres estados de madurez.

1. Determinación de la curva estándar de polifenoles totales.

La cuantificación de polifenoles totales se realizó a partir de una curva estándar generada por las absorbancias obtenidas con el estándar (+) -catequina a 700 nm.

Cuadro 5: Lectura de la absorbancia a partir de la concentración de (+) Catequina.

Concentraciones mg CAT/ml	Absorbancia (700 nm)			
	R1	R2	R3	Promedio
0,003	0,003	0,001	0,003	0,002
0,009	0,012	0,017	0,010	0,013
0,029	0,031	0,023	0,035	0,030
0,087	0,043	0,054	0,050	0,049
0,290	0,143	0,171	0,142	0,152
0,871	0,425	0,430	0,455	0,437
2,903	1,276	1,373	1,498	1,382

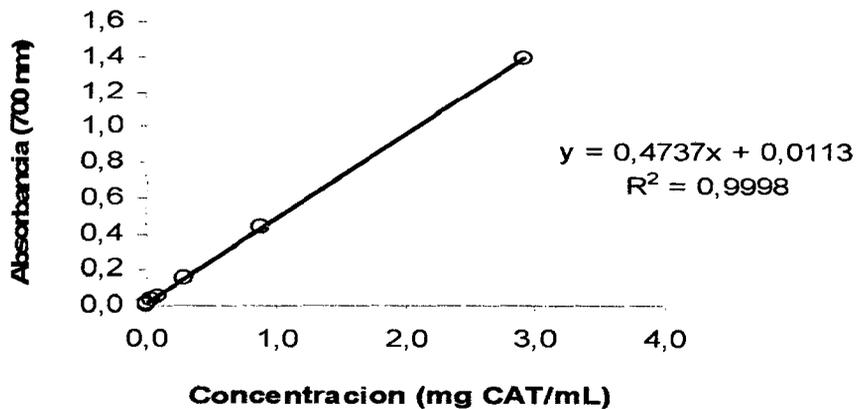


Figura 8: Curva estándar de (+) -catequina para la cuantificación de polifenoles totales.

2. Cuantificación de polifenoles totales.

La cuantificación de polifenoles se realizó en las muestras de jugo de noni en los diferentes estados de madurez, se trabajó utilizando la curva patrón de (+) -catequina. A continuación se presentan los resultados:

Cuadro 6: Contenido de polifenoles totales en el jugo de noni en tres estados de madurez.

Estado de madurez	mg de catequina/100 ml Jugo
Pintón	224,243±7,32 ^a
Maduro	232,413±6,76 ^a
Sobre Maduro.	173,510±4,26 ^b

Los valores representan (promedio ± SEM) los datos provienen del experimento (n=9) valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos. (p<0.05).

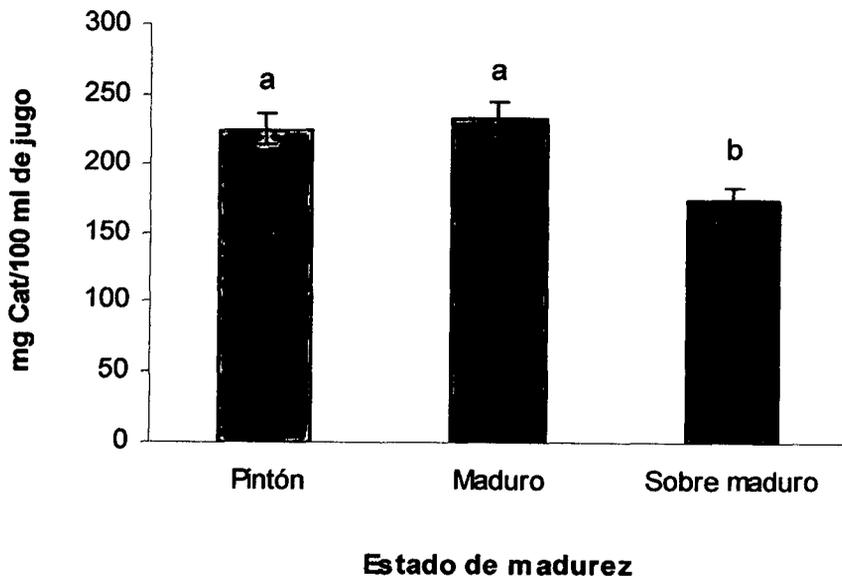


Figura 9: Comportamiento del contenido de polifenoles totales en el jugo de noni en tres estados de madurez.

D. Evaluación de la actividad antioxidante en el jugo de noni en tres estados de madurez.

1. Inhibición del radical 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH)

Para determinar la actividad antioxidante en el jugo de noni en los diferentes estados de madurez, se evaluó frente al radical DPPH y los resultados se presentan a continuación:

Cuadro 7: Inhibición de radicales libres de DPPH (IC_{50}) en el jugo de noni en tres estados de madurez.

Estado de madurez	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Pintón	$154,819 \pm 1,76^b$
Maduro	$149,475 \pm 0,55^a$
Sobre Maduro.	$200,321 \pm 1,43^c$

Los valores representan (promedio \pm SEM) los datos provienen del experimento (n=9) valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos. ($p < 0.05$).

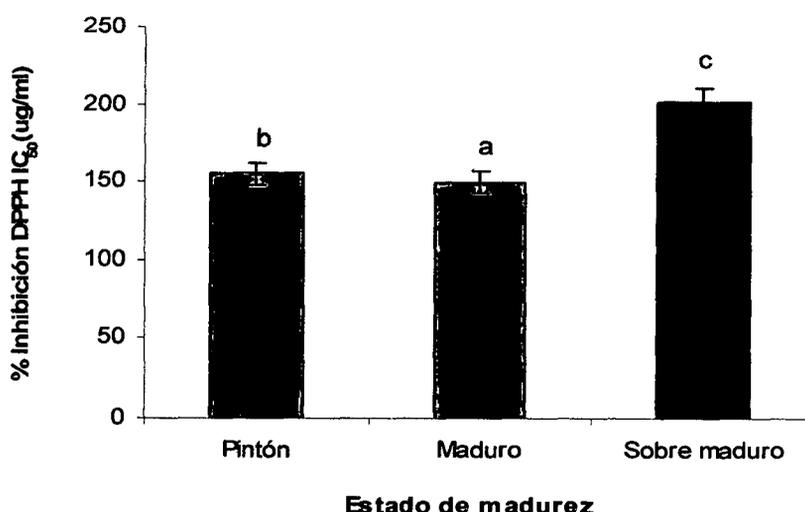


Figura 10: Comportamiento del IC_{50} del radical DPPH en el jugo de noni en tres estados de madurez.

2. Capacidad de inhibir el catión 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline – 6 ácido sulfónico) (ABTS^{o+}).

El comportamiento del jugo de noni en los diferentes estados de madurez frente al radical ABTS^{o+} se presenta en el siguiente cuadro y figura.

Cuadro 8: Determinación del IC₅₀ del radical ABTS^{o+} en el jugo de noni en tres estados de madurez.

Estado de madurez	IC ₅₀ (µg/ml)
Pintón	145,490±0,58 ^a
Maduro	186,961±1,22 ^b
Sobre Maduro.	191,311±1,22 ^c

Los valores representan (promedio ± SEM) los datos provienen del experimento (n=9) valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos. (p<0.05).

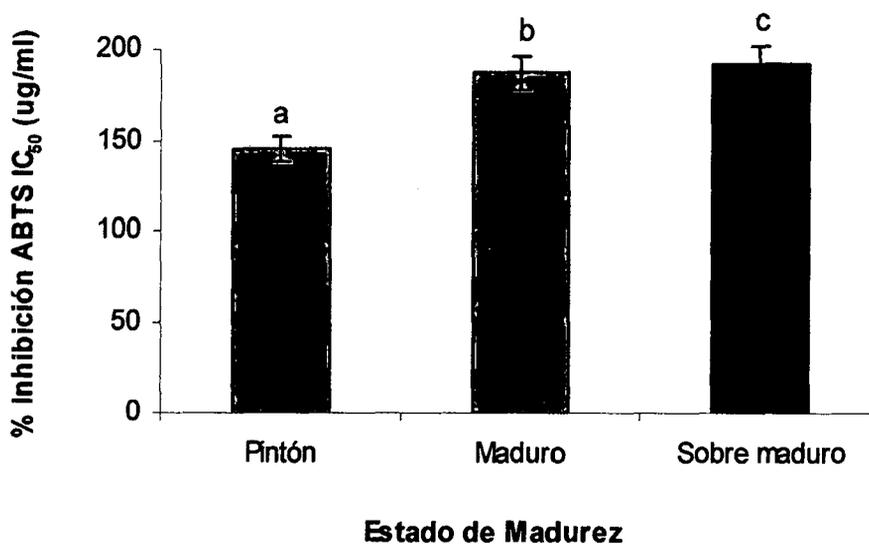


Figura 11: Comportamiento del IC₅₀ del radical ABTS^{o+} en el jugo de noni en tres estados de madurez.

3. Capacidad de inhibición del radical peroxilo.

En el jugo de noni se evaluó el comportamiento frente al radical peroxilo, los resultados se presentan en el siguiente cuadro y figura.

Cuadro 9: Determinación del IC₅₀ del radical peroxilo en el jugo de noni en tres estados de madurez.

Estado de madurez	IC ₅₀ (µg/ml)
Pintón	106,065±1,98 ^a
Maduro	114,774±1,03 ^b
Sobre Maduro.	132,124±0,74 ^c

Los valores representan (promedio ± SEM) los datos provienen del experimento (n=9) valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos. (p<0.05).

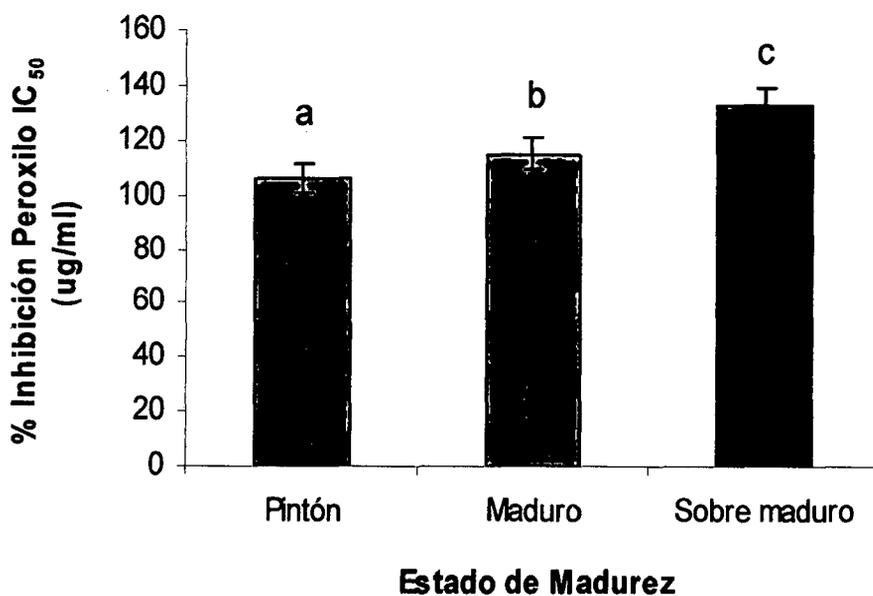


Figura 12: Comportamiento del IC₅₀ del radical peroxilo en el jugo de noni en tres estados de madurez.

V. DISCUSIÓN

A. Análisis físico químico de la pulpa de noni en tres estados de madurez.

1. Humedad.

Los resultados de humedad se reportan en el cuadro 2 y según el análisis de varianza (A-I, C-10) entre los estados de madurez del noni encontró que existe diferencia estadística significativa ($p < 0,05$). Según los resultados, el estado de madurez pintón contiene un mayor porcentaje de humedad con $85,95 \pm 0,26\%$ mientras que en el estado maduro y sobre maduro tienen valores similares $84,979 \pm 0,11\%$ y $84,437 \pm 0,17\%$ respectivamente, entre estos dos estados de madurez no existe diferencia estadística significativa, esta disminución de humedad puede deberse posiblemente a lo mencionado por GIL (1980) que manifiesta que la transpiración es el proceso por el que las frutas pierden agua a través de sus conexiones vasculares y que una parte del agua es utilizada en la hidrólisis del almidón. WILLS *et al.* (1989) indica que en las frutas, el contenido de agua es del 80 a 90% aproximadamente, así mismo son fuentes naturales de nutrientes esenciales en el desarrollo de los seres humanos. Por su parte FENEMA (1993) menciona que el agua en la cantidad, localización y orientación, es crucial para los procesos vitales e influye profundamente en la estructura, aspecto y sabor de los alimentos. Comparando nuestros resultados con lo reportado por SANTIAGO *et al.* (2008), la humedad

en fruta de noni verde y maduro fue $87,12 \pm 0,25$; $85,04 \pm 0,02$ respectivamente.

2. Proteína.

La proteína en los frutos es esencial para formar el tonoplasto alrededor de la vacuola central de la germinación (SALISBURY y ROSS, 1992). En el cuadro 2 se observa el porcentaje de proteína en los diferentes estados de madurez del noni, analizando estadísticamente se encontró que existe diferencia estadística significativa (A-I, C-11) entre los estados de madurez, el mayor contenido está en el fruto pintón $5,53 \pm 0,01\%$. Para el fruto maduro y sobre maduro no existió diferencia estadística significativa, para el primero fue $4,95 \pm 0,01\%$ y para el segundo $4,95 \pm 0,01\%$. FENEMA (1993) menciona que por lo general los frutos son considerados como fuentes deficientes de proteínas (0,2 – 1,3%), pero nuestros resultados demuestran lo contrario ya que tenemos valores por encima del 5%, pero estos concuerdan con lo reportado por SANTIAGO *et al.* (2008) quienes encontraron valores de $5,39 \pm 0,18$ y $6,15 \pm 0,02$ en fruta de noni verde y maduro respectivamente.

3. Grasa.

En el cuadro 2 se muestra el contenido de grasa en la pulpa de noni en diferentes estados de madurez. Realizado el análisis de varianza (A-I, C-12), no se encontró diferencia estadística significativa, determinando que el porcentaje de grasa para los tres estados de madurez del fruto es relativamente baja, alcanzando un promedio general para los tres estados de

madurez de 0,37%. Al respecto FENEMA (1993) menciona que los componentes lipídicos de la mayor parte de las frutas y verduras se hallan presentes en concentraciones relativamente bajas. Por su parte ARTHEY y ASHURST (1997) refiere que el contenido lipídico de las frutas suele hallarse por debajo del 1% y varía con el producto. Por otro lado AQUINO *et al.* (1989) indica que el contenido de grasa bruta es atribuido a los lípidos derivados entre ellos, esteroides y triterpenos que poseen la planta.

4. Fibra.

El contenido de fibra de la pulpa de noni en diferentes estados de madurez se presenta en el cuadro 2. Realizado el análisis de varianza (A-I, C-13) se encontró diferencia estadística altamente significativa para los tres estados de madurez, analizando los promedios el estado de madurez pintón tuvo el mayor porcentaje de fibra $5,97 \pm 0,01\%$, seguido por el estado maduro $5,26 \pm 0,09\%$ y por último el fruto sobre maduro $4,83 \pm 0,04\%$. BADUI (1984) menciona que la fibra es un filamento que forma parte de un tejido animal o vegetal como, celulosa, hemicelulosa o pectinas. Además la composición de dicha fibra varía considerablemente de un vegetal a otro, dependiendo del grado de madurez en el momento de su recolección (BADUI 1994).

5. Cenizas.

Los resultados del contenido de cenizas que se muestran en el cuadro 2 y el cálculo del análisis de varianza (A-I, C-14) muestran que existe diferencia estadística altamente significativa para los tres estados de madurez,

encontrándose un mayor porcentaje en el fruto pintón $1,18 \pm 0,01\%$, para el fruto maduro y sobre maduro $0,79 \pm 0,02\%$ y $0,47 \pm 0,01\%$ respectivamente. Comparando nuestros resultados con lo reportado por SANTIAGO *et al.* (2008) ellos reportaron en noni verde y maduro $5,46 \pm 0,04\%$ y $4,77 \pm 0,04\%$ respectivamente donde se observa que el contenido de ceniza disminuye durante la maduración pero sus valores reportados son mayores a los obtenidos en nuestros análisis. MATISSEK *et al.* (1998) menciona que una vez que se eliminan otras posibles impurezas y partículas de carbono procedentes de una combustión incompleta, el residuo se corresponde con el contenido en minerales del alimento, por otro lado FENEMA (1993) indica que el contenido mineral de los alimentos depende fundamentalmente de la naturaleza del suelo y del agua utilizada para la producción.

6. Carbohidratos.

El cuadro 2 nos muestra el contenido de carbohidratos en los tres estados de madurez del noni. Analizando estadísticamente se encontró que existe diferencia altamente significativa (A-I, C-15) en el cuadro se observa que la fruta en estado sobre maduro presenta el mayor contenido de carbohidratos $4,92\%$, seguido por la fruta en estado maduro $3,62\%$, mientras que el fruto pintón mostró tener menor porcentaje de carbohidratos con $0,96\%$, esta variación puede deberse a que durante la maduración se incremento considerablemente el contenido de carbohidratos. Al respecto FENEMA (1993) menciona que durante la maduración y almacenamiento de los frutos se producen procesos enzimáticos que conducen a un incremento de la blancura y

del contenido de azúcares, debido a la formación de sacarosa y otros azúcares a partir del almidón de reserva. Este fenómeno es un mecanismo contrario a la transformación de azúcar en almidón que ocurre en granos, tubérculos y raíces.

7. pH

Los valores de pH se presentan en el cuadro 2. Asimismo el análisis de varianza (A-I, C-16) presenta diferencia estadística significativa, para la fruta en estado pintón fue 4,7, para la fruta madura 4,1 y para el sobre maduro 4,0, estos valores muestran un descenso de pH durante la maduración de la fruta, tendiendo hacia la acidez, pero esto se ve reflejado en el análisis de acidez el cual se incrementa durante la maduración. Según ARTHEY y ASHURST (1997), en la mayoría de los frutos el pH es inferior a 4,2 y estos están relacionados con el contenido de ácidos orgánicos los cuales desempeñan un papel muy importante en las frutas, confiriéndole el sabor agrio.

8. Sólidos solubles.

El cuadro 2 esta referido al contenido de sólidos solubles ($^{\circ}\text{Bx}$) en el jugo de noni en los diferentes estados de madurez. Analizando estadísticamente (A-I, C-17) se encontró que existe diferencia altamente significativa, obteniendo un mayor contenido de azúcares en la fruta sobremadura $11,76 \pm 0,02^{\circ}\text{Bx}$ y menores para la fruta madura y pintón $9,76 \pm 0,03^{\circ}\text{Bx}$ y $8,26 \pm 0,03^{\circ}\text{Bx}$ respectivamente. Al respecto PRIMO (1997) menciona que los azúcares aumentan en forma continua a medida que los frutos van madurando, por el

mismo hecho que los almidones se van hidrolizando hasta formar azúcares. Por su parte CHEFTEL y CHEFTEL (1976) también indica que el contenido en osas y el sabor azucarado de las frutas aumentan en el curso de la maduración.

9. Acidez.

Los valores de acidez en las muestras se presentan en el cuadro 2, realizado el análisis estadístico se encontró diferencia altamente significativa (A-I, C-18), realizando la comparación de las medias se determinó el menor contenido de acidez de $0,29\pm 0,01\%$ (ácido cítrico) para la fruta en estado pintón, seguido de $0,35\pm 0,01\%$ (ácido cítrico) y $0,59\pm 0,01\%$ (ácido cítrico) para la fruta madura y sobre madura respectivamente. Al respecto DUCKWORTH (1968) menciona que el contenido de ácido en los frutos se expresa en porcentaje de ácido cítrico, el cual varía según la madurez. En la mayoría de los frutos la acidez decrece gradualmente con el proceso de maduración jugando un papel importante en el balance acidez/azúcar y por ende influyendo en el sabor y aroma de los frutos. Pero nuestros resultados muestran lo contrario ya que durante la maduración del noni se nota un aumento progresivo de la acidez. Se cree que en esta fruta pueden existir otros ácidos los cuales tienden a aumentar durante el proceso de maduración (AZCON-BIETO y TALON, 1996).

10. Índice de madurez.

Los valores del índice de madurez se presenta en el cuadro 2, realizado el análisis de varianza (A-I, C-19) se determinó que existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos, pero entre el estado de madurez pintón $27,71 \pm 0,46$ y maduro $27,83 \pm 0,29$ no existe diferencia estadística, pero si mínima diferencia numérica, al respecto PARRA y HERNÁNDEZ (1997) manifiestan que para el reconocimiento del momento óptimo de recolección se han establecido una serie de factores indicativos denominados "índices de madurez", los cuales deben ser capaces de poner de manifiesto diferencias pequeñas. Durante la sobre maduración de la fruta este valor tiende a disminuir hasta $19,647 \pm 0,03$. PRIMO (1997) afirma que durante la maduración de los frutos hay un aumento progresivo en la concentración de los sólidos solubles, sobre todo de azúcares y un descenso importante de la acidez, por esto, la relación Brix/Acidez aumenta cuando avanza la maduración, y se toma universalmente como índice de madurez (I.M), pero en nuestro caso sucede lo contrario y esto es debido a que durante la maduración y sobre maduración de la fruta los ácidos tienden a aumentar.

B. cuantificación de ácido ascórbico en el jugo de noni en tres estados de madurez.

1. Determinación de curva estándar de ácido ascórbico.

Para la cuantificación de la vitamina C en el jugo de noni se elaboró una curva patrón con ácido ascórbico, las concentraciones que se usaron fueron de 25 a 200 ug/ml. y para cada prueba se realizó seis repeticiones, los resultados

de absorbancia fueron leídas a 515 nm; en el cuadro 3 se presenta las absorbancias para cada concentración y en la figura 6 se muestra el gráfico de correlación el cual esta representada por una línea recta, en este caso esta relacionado a un modelo matemático de primer orden ya que la ecuación obtenida es $y = 0.0044X - 0.0048$ y el coeficiente de determinación es $R^2 = 0.9981$ el cual nos indica el grado de información compartida entre 2 variables y además nos indica que dicho modelo matemático es el apropiado ya que cuando tiende a la unidad la tendencia lineal se hace mas fuerte (DEL CASTILLO, 1993).

2. Cuantificación de ácido ascórbico.

La vitamina C juega un papel vital en la síntesis del colágeno y en la protección contra las lesiones producidas por los radicales libres (WONG, 1995). En el cuadro 4 y figura 7 se observa los datos del contenido de ácido ascórbico en el fruto de noni (*Morinda citrifolia L.*) en diferentes estados de madurez, analizando estadísticamente los resultados se encontró que existe diferencia significativa (A-II, C-20) , comparando las medias mediante la prueba de tukey ($p < 0,05$) se determinó que los estados de madurez influyen en el contenido de ácido ascórbico, encontrando que el mayor contenido esta en el fruto maduro con $252,975 \pm 1,87$ mg de ácido ascórbico/100 ml de jugo. Según VARGAS *et al.* (2005), en las células vegetales la producción de especies reactivas de oxígeno (EROS) se incrementa durante los procesos de maduración, pero la célula tiene que mantener el equilibrio dinámico por lo tanto, el sistema antioxidante que protege a las células del organismo también

se incrementa, sabiendo que el ácido ascórbico es considerado como uno de los antioxidantes naturales, así mismo CHEFTEL y CHEFTEL (1976) indica que la maduración presupone un descenso de la acidez de esta forma la relación azúcares/ácidos aumenta durante la maduración de la mayor parte de las frutas.

En los estados de madurez pintón y sobre maduro no existió diferencia estadística significativa, para el primero fue $224,37 \pm 0,41$ y para el segundo $219,57 \pm 0,28$ mg de ácido ascórbico/100 ml de jugo, esto puede deberse a lo reportado por BRICEÑO *et al.* (2005) que indica que en estudios realizados se observó que la tasa respiratoria mostró un patrón regular y un pico climatérico durante la maduración de las frutas. Estos cambios en la tasa respiratoria son acompañados de cambios químicos y bioquímicos en el fruto, de los cuales se han presentado cambios en el contenido de azúcares, almidón, acidez y vitaminas. Por otro lado VARGAS *et al.* (2005) indica que la disminución en los niveles de ácido ascórbico durante la maduración y el almacenamiento es fácilmente cuantificable, esto está asociada a la tasa respiratoria en la que se generan EROS. En este panorama, enzimas como ascorbato peroxidasa y ascorbato reductasa, juegan un papel importante al usar el ácido ascórbico como sustrato.

El mayor contenido de ácido ascórbico en el noni fue en el estado de madurez maduro con $252,975 \pm 1,87$ mg de ácido ascórbico/100 ml de jugo. Según el INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICIÓN (2001), reporta para la

guayaba 111.93 y 160 mg/100g de parte comestible, así mismo para el limón se reporta 80 mg/100g (VILAPLANA, 2007), con respecto a estos datos se puede indicar que con el consumo de 50g de noni se puede cubrir el requerimiento mínimo diario que es 60 mg (VARGAS *et al.*, 2005). En conclusión el mayor contenido de ácido ascórbico en el noni se encuentra en el estado de madurez maduro.

C. Cuantificación de polifenoles totales en el jugo de noni en tres estados de madurez.

1. Determinación de la curva estándar de polifenoles totales.

Para la cuantificación de polifenoles totales se realizó una curva estándar con (+)-catequina, para ello se ploteó concentraciones de 0,003 a 2,903 mg catequina/ml cada prueba se realizó por triplicado y las lecturas de absorbancia se registraron a 700 nm. Luego se procedió a realizar el cálculo mediante un modelo matemático de primer orden cuya ecuación es $y = 0,4737X + 0,0113$ con un $R^2 = 0,9998$ como se muestra en el cuadro 5 y figura 8. Referente a este último valor SACHS (1978) menciona que el coeficiente de determinación (R^2); es el ajuste de la línea de regresión a los puntos, cuanto mas cerca esta el R^2 a 1, es mejor, esto coincide con el coeficiente de determinación hallada para la curva estándar cuyo valor es 0,9998.

Para la curva patrón se utilizó como estándar la (+)-catequina, según ALLER (2008), refiere que las catequinas son un tipo especial de flavonoides que pueden captar directamente especies reactivas de oxígeno como

superóxido (O_2^-), agua oxigenada (H_2O_2) o ácido hipocloroso ($HOCl$) que pueden ser muy dañinos para lípidos, proteínas y DNA. FRANKEL *et al.* (1995) menciona que los monómeros de catequina y epicatequina tanto como sus polímeros tienen una importante capacidad antioxidante, incluso mas efectiva que la vitamina E.

2. Cuantificación de polifenoles totales.

En el cuadro 6 y figura 9 se presenta los resultados del contenido de polifenoles totales en el jugo de noni en los tres estados de madurez (pintón, maduro y sobre maduro), analizando estadísticamente se encontró que existe diferencia estadística significativa, (A-III, C-21) comparando las medias mediante la prueba de tukey ($p < 0,05$) se encontró que en el estado de madurez pintón y maduro no hay diferencia estadística, pero si en el fruto sobre maduro. El fruto pintón tuvo $224,243 \pm 7,33$ mg de catequina/100 ml de jugo y el fruto maduro tuvo $232,413 \pm 6,77$ mg de catequina/100 ml de jugo. Este comportamiento de los resultados puede deberse a lo que menciona PARK *et al.* (2006) quien indica que una vez iniciada la maduración de los frutos existe la presencia del etileno el cual es conocido como una hormona de maduración y provoca cambios en la composición de los frutos, por lo que en frutos maduros la presencia del etileno favorece un aumento en la concentración polifenólica. Por otro lado VARGAS *et al.* (2005) menciona que la actividad glucosidasa genera los carbohidratos y las respectivas agliconas, por lo que el contenido de compuestos fenólicos libres debería verse incrementado durante la maduración de las frutas.

Por el contrario en el noni sobre maduro el contenido de polifenoles fue $173,510 \pm 4,27$ mg de catequina/100 ml de jugo. MURAKAMI *et al.* (2004) indica que la actividad para captura de radicales de algunos vegetales y frutos se incrementa durante la cocción y este incremento es debido a la inactivación de la polifenol oxidasa y oxidasa ascorbato, así mismo BADUI (1988) indica que la polifenol oxidasa es responsable del oscurecimiento de algunas frutas y en el caso del noni el fruto sobre maduro se oxida con facilidad.

El mayor contenido de polifenoles en el jugo de noni fue $232,413 \pm 6,77$ mg de catequina/100 ml de jugo, comparado a MURILLO (2006) este reporta 133 mg/100g en pulpa de noni pero no especifica el grado de madurez, así mismo VARGAS *et al.* (2005) reporta 120 mg catequina/100g (BH) de pulpa de arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh).

En la presente investigación las muestras de jugo de noni fueron trabajados con metanol, esto permitió que se pueda extraer compuestos fenólicos y fenólicos – hidroxí con ácidos, alcoholes, azúcares o glucósidos (ZIN *et al.*, 2002). En conclusión el mayor contenido de polifenoles en jugo de noni se encuentra en el fruto maduro.

D. Evaluación de la actividad antioxidante en el jugo de noni en tres estados de madurez.

1. Inhibición del Radical 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH).

Los resultados de la prueba de DPPH fueron expresados en IC_{50} (ug/ml) para los diferentes estados de madurez pintón, maduro y sobre maduro como se muestra en el cuadro 7 y figura 10 los valores encontrados fueron analizados estadísticamente y se determinó que existe diferencia altamente significativos (A-IV, C-22); calculado los promedios según la prueba de Tukey ($p < 0,05$) se encontró que el mejor tratamiento corresponde al estado de madurez maduro con $IC_{50} 149,47 \pm 0,55$ ug/ml. comparado con el resto, según MURILLO (2006) indica que los frutos que tienen el valor de IC_{50} menor tienen mayor actividad antioxidante; el mismo autor realizó una comparación de IC_{50} en frutos tropicales e indica que el noni esta entre las 11 mejores en actividad antioxidante.

En el estado de madurez sobre maduro el IC_{50} del noni fue $200,32 \pm 1,43$ ug/ml. Un fruto para ser cosechado y consumido tiene que haber alcanzado su madurez fisiológica y comercial, según FAO/OMS (1984) indica que la madurez de un fruto es aquel que ha completado su crecimiento activo (crecimiento vegetativo) y producción de semilla (madurez fisiológica). En cambio los frutos sobre maduros son aquellos en los que la madurez organoléptica no es gustativa ni olfativa y señala que es el final desarrollo de la fruta y comienza la senescencia y ordinariamente es un proceso irreversible (WILLS, 1984).

Comparando los estados de madurez para el noni entre pintón (154,82±1,76 ug/ml.) y maduro (149,47±0,55 ug/ml.) se encontró que el pintón tiene menor capacidad para inhibir el 50% del radical DPPH, esto puede ser explicado por VARGAS *et al.* (2005) que indica que durante la maduración podrían generarse productos de condensación o incremento en algunos compuestos fenólicos que aportan mayor actividad antioxidante.

Comparando los valores de IC₅₀ del noni con otros frutos tenemos que este es mejor que el agua de coco de la variedad verde con 1 – 10 % de albumen con IC₅₀ 252±3,6 mg/100 ml (REÁTEGUI, 2003) y la fresa con IC₅₀ 132,8 mg/100g (KUSKOSKI *et al.*, 2005).

De los estados de madurez evaluados en la determinación del IC₅₀ del radical DPPH se concluye que el noni maduro es el que ofrece la mayor capacidad antioxidante.

2. Capacidad de inhibición del Cation 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline – 6 ácido sulfónico) (ABTS^{o+})

Los resultados de la evaluación de la capacidad secuestrante del cation ABTS^{o+} se observa en el cuadro 8 y figura 11, realizado el análisis estadístico se encontró que existe diferencia altamente significativo (A-IV, C-23) entre los estados de madurez pintón, maduro y sobre maduro. Comparando los promedios de los tratamientos mediante la prueba de tukey (p<0,05) se encontró que el estado de madurez que ejerció efecto sobre la capacidad de

inhibir el catión $ABTS^{\circ+}$, siendo el mejor el pintón con IC_{50} $145,49 \pm 0,58$ $\mu\text{g/ml}$., pero en la prueba de DPPH el que tuvo la menor eficacia de inhibición correspondió al estado de madurez maduro IC_{50} $149,47 \pm 0,55$ $\mu\text{g/ml}$, esto puede ser explicado por KUSKOSKI *et al.* (2005) que indica que ambos métodos presentan una excelente estabilidad en ciertas condiciones, aunque también muestran diferencias. El DPPH es un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa, mientras que el $ABTS^{\circ+}$ tiene que ser generado tras una reacción que puede ser química (dióxido de manganeso, persulfato de potasio, ABAP), ó enzimática, además se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, mientras que el DPPH solo puede disolverse en medio orgánico.

Asimismo, en los frutos pintones se encuentra un marcado sabor astringente y que se reduce en la maduración, esto puede deberse a que los taninos que se localizan en los vasos de látex y sus células adyacentes tanto en la pulpa como en la cáscara ofrecen una mayor actividad antioxidante (PALMER, 1979).

Comparando los tres estados de madurez el que tiene capacidad de inhibición al catión $ABTS^{\circ+}$ intermedio es el fruto del noni maduro IC_{50} $186,961 \pm 1,22$ $\mu\text{g/ml}$, comparado con la capacidad de inhibición del radical DPPH, el fruto sobre maduro fue el que menos eficiencia tuvo al igual que el $ABTS^{\circ+}$. CHEFTEL y CHEFTEL (1976) menciona que al estado de madurez óptimo (desde el punto de vista organoléptico) sigue inmediatamente la

desorganización y senectud de los tejidos; ablandamiento excesivo, pardeamiento enzimático, etc. Además en las células vegetales las especies reactivas de oxígeno se generan durante los procesos de maduración y se incrementan durante la senescencia tal como lo menciona VARGAS *et al.* (2005).

De acuerdo a los resultados referidos al catión ABTS^{o+} en el noni se obtuvo IC₅₀ 145,49±0,58 ug/ml., comparado con la fresa 202,5±0,5 mg/100g y uva 161,5±3,3 mg/100g, el noni es mejor (KUSKOSKI *et al.*, 2005).

En conclusión la evaluación de la capacidad secuestrante del catión ABTS^{o+} en el fruto del noni fue mejor en estado pintón.

3. Capacidad de inhibición del Radical Peroxilo

En el cuadro 9 y figura 12 se presenta los resultados del coeficiente de inhibición del radical peroxilo, realizado el análisis de varianza se encontró que existe diferencia altamente significativa con respecto a los tratamientos (A-IV, C-24) en el estado de madurez comparando las medias mediante la prueba de tukey ($p < 0,05$) se determinó que el mejor tratamiento fue el noni en el estado de madurez pintón con IC₅₀ 106,065±1,98 ug/ml; esto puede deberse a lo reportado por WILLS (1984) que indica que los frutos no maduros guardan como reserva muchos componentes y que durante el periodo de maduración la actividad metabólica se incrementa, provocando cambios posteriores.

Para las respectivas lecturas de absorbancia, para la determinación de la actividad antioxidante, el jugo de noni fue diluido con metanol, según ZIN *et al.* (2002) indica que la actividad antioxidante de la *Morinda citrifolia L.* en hojas, frutos y raíces depende de la polaridad de los solventes. Así mismo, en las frutas maduras y sobre maduras el coeficiente de inhibición del radical peroxilo es menor IC_{50} $114,774 \pm 1,04$ ug/ml y IC_{50} $132,124 \pm 0,74$ ug/ml respectivamente; esto puede deberse a lo reportado por PRIMO (1997), quien afirma que durante la maduración de las frutas hay un aumento progresivo de sólidos solubles, azúcares, descenso de la acidez y compuestos aromáticos.

De acuerdo a los resultados se encontró que el jugo de noni pintón tuvo mayor eficiencia frente al radical peroxilo $106,065 \pm 1,98$ ug/ml, comparado con otras investigaciones; VILLANUEVA (2003) reportó como mejor tratamiento frente al radical peroxilo la cáscara pintón de camu camu (*Myrciaria dubia HBK*) encontrando un IC_{50} $8,30 \pm 0,85$ ug/ml., el mismo autor indica en maca IC_{50} 430 ug/ml.; esto nos indica que el noni es un fruto con buena actividad antioxidante, no siendo tan eficiente como la cáscara pintón de camu camu pero si superior al de la maca, Según ZIN *et al.* (2002) explica que la actividad antioxidante observada en el noni puede ser por el efecto sinérgico de mas de 2 compuestos que están presentes en la planta porque la actividad antioxidante trabaja mejor en sinergismo produciendo un mayor efecto de actividad.

VI. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación, se llegó a las siguientes conclusiones:

- La composición físico químico en el fruto de noni fue variado, dependiendo del estado de madurez.
- El mayor contenido de ácido ascórbico y polifenoles totales en el jugo de noni fue en estado maduro con $252,975 \pm 1,87$ mgAA/100ml y $232,413 \pm 6,76$ mg de catequina/100ml respectivamente.
- La mejor capacidad antioxidante del DPPH fue en el estado maduro IC_{50} $149,475 \pm 0,55$ ug/ml., mientras que el estado de madurez pintón fue mejor para el catión $ABTS^{o+}$ IC_{50} $145,490 \pm 0,58$ ug/ml y radical peroxilo IC_{50} $106,065 \pm 1,98$ ug/ml.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar trabajos de investigación para quitar o disminuir las sustancias que le confieren sabor y olor desagradable al noni.
- Investigar la actividad antioxidante en las diferentes partes de la planta como son: raíz, tallo, hoja y semillas de la fruta.
- Estudiar el efecto de los diferentes procesos como atomizado, liofilizado y secado en la pulpa de noni y su actividad antioxidante.
- Desarrollar parámetros para la elaboración de una bebida nutracéutica utilizando la pulpa de noni y evaluar su actividad antioxidante.
- Realizar estudios *in vivo* de las propiedades antioxidantes del noni.

VIII. ABSTRACT

ANTIOXIDANT ACTIVITY EVALUATION OF NONI (*Morinda citrifolia* L.) FROM THREE MATURITY STAGES HARVESTED IN TINGO MARIA

In this time (actually) there is a lot of interest to find antioxidants from natural resources including noni (*Morinda citrifolia* L.) the consumption is promoted due to its functional properties. Also is used as a dietetic nutritious supplement, because it has nutritional benefits, the consumption can be in juice, drinkings, concentrates, tablets or pills. The goal was to determine the physico-chemistry features, the content of ascorbic acid, total polyphenols and antioxidant activity of de DPPH, ABTS^{•+} and peroxide methods in fruit of noni in ripeness (maturity) state a little ripeness, ripeness, so ripeness. This research was held in a laboratory, in Research Center of Natural Products in the Amazonian (CIPNA-UNAS). The physico-chemistry characteristics (AOAC, 1997) the quantification of total polyphenols Folin Ciocalteu method SANDOVAL *et.al.* (2001), the antioxidant activity through the DPPH radical method of BRAND – WILLIAMS *et al.* (1995), modified by SANDOVAL *et.al.* (2001) to the cation ABTS^{•+} method PELLIGRINI *et.al.* (1999) and to the peroxide radical method TRAP (total power of reduced activity) SANDOVAL *et.al.* (2001) the high percentage about humid proteins, fiber, ashes found in fruit in a little ripeness, while the carbohydrates,

solubles solid and acid in so ripeness state, this showed a progressive decrease of pH during the maturity of fruit and the fat was constantly for the three states. The fruit in ripeness had the best content of acid ascorbic $252,975 \pm 1,87$ mgAA/100ml, and total polyphenols $232,413 \pm 6,76$ mg de catequina/100ml of noni juice. to the DPPH radical found as the best to ripeness state $IC_{50} 149,475 \pm 0,55$ ug/ml , in the ABST^{o+} cation method the best was the a little ripeness state $IC_{50} 145,490 \pm 0,58$ ug/ml and this same soripenes state was the best in peroxile radical $IC_{50} 106,065 \pm 1,98$ ug/ml.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- ACOSTA, M. 2003. Manual de Opciones Tecnológicas para el Manejo Ecológico del Cultivo de Noni (*Morinda Citrifolia* L.) en Panamá. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP) / Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI). Panamá. 384 p.
- AGUSTÍ, M. 2004. Fruticultura. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. 493 p.
- ALLER, L. 2008. Papel de los Flavonoides del Té en la Protección Cardiovascular An Med Interna. Madrid, España. V. 25, Nº 3: p 105-107.
- ANDERSON, D. y PHILLIPS, B. 2001 Comparative in vitro and in vivo effects of antioxidants. Food. Chem Toxicol 37: p 1015— 1025.
- AOAC. 1964. Official Methods of analysis of AOAC (Association of Official Analytical Chemists) International; Agricultural Chemicals, Foods, Contaminants and Drugs. ISED Gaithersburg Md. USA AOAC International. 1141 p.
- AOAC. 1995. Official Methods of analysis of the Association of Official Agriculture Chemistry. Washington, D. C. Ch 37. p 16.
- AOAC. 1997. Official Methods of analysis of AOAC (Association of Official Analytical Chemists) International; Agricultural Chemicals, Foods, Contaminants and Drugs. V1 y V2 Arlington: A.O.A.C. Inc. 2658 p.

- AMOS, J. 1968. Manual de Industrias de los Alimentos. Edit. Acribia, S.A. Zaragoza, España. 1052 p.
- AQUINO, R.; DE SIMONE, F.; PIZZA, C.; CONTI, C. y STEIN, M. 1989. Plant metabolites, structure and in Vitro antiviral activity of quinovic acid glycosides from *uncaria tomentos* and *guetarda platypoda*. Journal of natural products. Vol. 52:679 – 685.
- ARCILA, P., GIRALDO, G., CELIS, F. y DUARTE, J. 2002. Cambios Físicos y Químicos Durante la Maduración del Plátano dominico-hartón (*Musa AAB Simmonds*) en la Región Cafetera Central Colombiana. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA. Colombia. p 455 – 463.
- ARTHEY, D. y ASHURST, P. 1997. Procesado de Frutas. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza España. 273 p.
- ARUOMA, O. 1994. Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. *Food Chem Toxicol* 32, p 671 – 683.
- ARUOMA, O.; HALLIWELL, B.; LAUGHTON, M.; QUINLAN, G. y GUTTENDGE, J. 1989. The Mechanism of initiation of lipid peroxidation. Evidence against a requirement for an iron(II)-iron(III) complex. *Biochem J* 258, p 617 – 620.
- AVELLO, M. y SUWALSKY, M. 2006. Radicales Libres, Antioxidantes Naturales y Mecanismos de Protección. Proyectos de investigación FONDECYT 1060990 y DIUC 204.074.037-1.0. Facultad de Farmacia y Ciencias Químicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile. *Atenea* 494. p 161 – 172.

- AZCÓN-BIETO, J.; TALON, M. 1996. Fisiología y Bioquímica Vegetal. Madrid. McGraw-Hill. p. 463-478.
- BADUI, S. 1988. Diccionario de Tecnología de los Alimentos. Primera Edición. Editorial ALHAMBRA, S.A. México. 300 p.
- BADUI, S. 1984. Química de los Alimentos. Edit. Alhambra S.A. México. 430 p.
- BADUI, S. 1994. Química de los Alimentos. 3ª ed. Edit. Alhambra Mexicana, S.A. México. 648 p.
- BAQUEDANO, E.; BUSTILLO, E.; ORDOÑEZ, P.; NUÑEZ, F.; SCHONEICH, T. y CENTENO, M. 2004. "Fundación Para el Desarrollo Tecnológico Agropecuario y Forestal de Nicaragua" (FUNICA). Grupo del Noni (*Morinda citrifolia L.*)- San Francisco del Norte [En línea]: <http://www.fidamerica.cl/getdoc.php?docid=2008>.
- BRAVO, I. 1998. Poliphenol: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. Nutr Rev. 56 (11); p 317 – 333.
- BRICEÑO, S.; ZAMBRANO, J.; MATERANO, W.; QUINTERO, I. y VALERA, A. 2005. Calidad de los Frutos de Mango 'Bocado', Madurados en la Planta y Fuera de la Planta Cosechados en Madurez Fisiológica. Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad de Los Andes (UCLA). Grupo de Investigación de Fisiología de Postcosecha. Estado Trujillo. Venezuela. Agronomía Trop. 55(4): p 461-473.
- BRODY, T. 1999. Nutrition biochemistry 2nd Ed. USA Academia Press, New York. p 458 – 459.

- CARR, A. y FREI, B. 1999. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 69(6): p 1086 – 1107.
- CHEFTEL, J. y CHEFTEL, H. 1976. Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos. Vol. 1. Edit. Acribia. Zaragoza, España. 333 p.
- CHEFTEL, J. y CHEFTEL, H. 1980. Introducción a la Bioquímica de los Alimentos. Edit. Acribia. Zaragoza, España. 592 p.
- CHIHUAILAF, R.; CONTRERAS, P. y WITTEWER, F. 2002. Patogénesis del Estrés Oxidativo: Consecuencias y Evaluación en Salud Animal. Instituto de ciencias Clínicas Veterinarias. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile. Casilla 567, Valdivia Chile. *Vet. Méx.*, 33 (3) p 265 – 283.
- DEL CASTILLO, J. 1993. Bioestadística para las Ciencias de la Salud. 4ª ed. Madrid: HORMA. 150 p.
- DIPLOCK, A. 1991. Antioxidant Nutrients and disease prevention and Overview *Am J. Clin Nutr.* 53:93 – 189.
- DRAGO, M.; LOPEZ, M. y SAINZ, T. 2006. Componentes Bioactivos de Alimentos Funcionales de Origen Vegetal. Asociación Farmacéutica Mexicana, A.C. revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. Vol. 37, numero 004. México. p 58 – 68.
- DUCKWORTH, R. 1968. Frutas y Verduras. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza - España. 304 p.
- ELEJALDE, G. 2001. Oxidación entre la Vida y la Enfermedad. *Anales de Medicina Interna.* Madrid – España. 18 (1): p 1 – 4.

- FAO/OMS. 1984. Manuales para el Control de Calidad de los Alimentos: Poscosecha de Frutas y Hortalizas. Roma. Italia. 161 p.
- FENEMA, R. 1993. Química de los Alimentos. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza España. 1095 p.
- FERRERES, F.; GIL, M.; CASTAÑER, M. y TOMAS-BARBERÁN, F. 1997. Phenolic metabolites in red pigmented lettuce (*Lactuca sativa*). Changes with minimal processing and cold storage. J Agric Food Chem, 45; p 4249 - 4254
- FINKEL, T. y HOLBROOK, J. 2000. "Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing", en Nature. 408, p. 239 – 247.
- FRANKEL, N.; WATERHOUSE, L. y TEISSEDE, RL. 1995. Principal Phenolic Phytochemicals in Selected California Wines and Their Antioxidant Activity in Inhibiting Oxidation of Human low Density Lipoproteins. J. Agric. Food Chem. 43. p 890 – 894.
- GALLO, F. 1993. Índice de Madurez para Piña Cayena Lisa, Guanábana, Pitaya Amarilla y Maracuyá. Agro-Desarrollo 4 (1-2), 194-200.
- GIL, F. 1980. Tratado de Arboricultura Frutal: Morfología y Fisiología. Vol. I. hedi. Mundi Prensa. Madrid. España. 203 p.
- GONZALES-TORRES, M.; BETANCOURT-RULE, M. y ORTIZ-MUÑIZ, R. 2000. Daño Oxidativo y Antioxidantes. Bioquímica. Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa. México. 25 (1): p 3 – 9.
- GONZÁLEZ, Y.; PEÑA, M.; SÁNCHEZ, R. y SANTONA, L. 2001. Taninos de Diferentes Especies Vegetales en la Prevención del Fotoenvejecimiento. Revista Cubana Investigación Biomed. 20 (1):16-20.

- HALLIWELL, B. 1994. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lance* 344, p 721 – 724.
- HALLIWELL, B.; MARCIA, M.; CHIRICO, S.; AUROMA-OKEZIE, L. 1995. Free Radicals and Antioxidants in Food and in Vivo; GAT they Do and How they Work. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 35 (1/29): p 7 – 20.
- HALLIWELL, B. y GUTTERIDGE, M. 1985. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Clarendon Pres, Oxford.
- HART, L. y FISHER, J. 1991. *Análisis Moderno de los Alimentos*. Edit. Acribia. Zaragoza, España. 625 p.
- HAWTHORN, J. 1983. *Fundamentos de Ciencia de los Alimentos*. Edit. Acribia. Zaragoza, España. 206 p.
- HERTOG, M.; HOLLMAN, P. y KATAN, M. 1992. Content of potentially anticarcinogenic flavonols of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netberlands. *J Agric Food Chem*, 40; p 2379 – 2383.
- HERTOG, M. y HOLLMAN, P. 1996. Potential health effects of the dietary flavonol quercetin. *Europ. J Clin Nutr*. 50; p 63 – 71.
- HIRAZUMI, A; FURUSAWA, E; CHOU, S. C; HOKAMA, Y. 1994. Actividad anticancerígeno del Noni (*Morinda citrifolia L.*) en el carcinoma intraperitoneal Lewis Lung implantado en ratones singénicos. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* 37: p 145-146.
- HUNG, CH-Y. y YEN, G-CH. 2002. Antioxidant Activity of Phenolic Compounds Isolated from *Mesona Procumbens* Hemsl. *J. Agric. Food Chem.* P: A-E.

- INOE, M.; TAJIMA, K.; MIZUTANI, M.; IWATA, H.; IWASE, T.; MIURA, S.; HIROSE, K.; HAMAJIMA, N. y TOMINAGA, S. 2001. Regular consumption of green tea and the risk of breast cancer recurrence: Research Program at Aichi Cancer Center (HERPACC) Japan. *Cáncer Let.* 167: p 175 – 182.
- INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICION. 2001. Tabla de Composición de Alimentos para uso Practico. Publicación N° 54. Serie Cuadernos Azules. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. Dirección Técnica. División de Investigación de Alimentos. Revisión 1999. 1ª reimpresión. Caracas, Venezuela. p 13 – 58, 59 – 61.
- KADER, A. 1992. Post harvest biology and technology: an overview In: Kader, A.A. (ed) Post harvest Technology of Horticultural Crops University of California Oakland CA. p. 15-20. (Publication 3 311).
- KAYS, S. 2004. Postharvest biology. Exon Press, Athens, Georgia. 568 p.
- KETTERER, B. 1986. Detoxication Reactions of Glutathione and Glutathione Transferases. *Xenobiotica*, 16. p 957 – 973.
- KORC, I.; BIDEGAIN, M. y MARTEL, M. 1995. Radicales Libres Bioquímica y Sistemas Antioxidantes Implicancia en la Patología Neonatal. *Rev Med Uruguay*; 11: p 121-135.
- KUSKOSKI, M.; ASUERO, A.; TRONCOSO, A.; MANCINI-FILHO, J. y FETT, R. 2005. Aplicación de Diversos Métodos Químicos para Determinar Actividad Antioxidante en Pulpa de Frutos. *Ciencia y Tecnología de Alimentos. Campinas*, 25 (4): p 726 – 732.

- LACHANCE, P.; NAKAT, Z. y JEONG, S. 2001. Antioxidants: An Integrative Approach. *Nutr.* 17: p 835 – 838.
- LEBEAU, J., FURMAN, C., BERNIER, J.L., DURIEZ, P., TESSIER, E., COTELLE, N. 2000. Antioxidant properties of di-tert-butylhydroxylation flavonoids. *Free Rad. Biol. And Med.* p 990-991.
- MAHAN, L. y ARLIN, M. 1992. Vitamins. *Krause's Food, Nutrition and Diet Therapy.* W. B. Saunders Co., p 99-101.
- MARTÍNEZ – VALVERDE, I.; PERIAGO, M. y ROS, G. 2000. Significado Nutricional de los Compuestos Fenólicos de la Dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición.* 50 (1): p 5 – 15.
- MASON, P. 1982. Free radical intermediates in the metabolism of toxicological significance. In *Free Radicals Biology*, ed. Pryor WA, Academic press, New York. p 262 – 265.
- MATISSEK, R.; SCHNEPEL, F. y STEINER, G. 1998. *Análisis de los Alimentos.* Edit. Acribia, S. A. Zaragoza, España. 416 p.
- MEDLICOTT, A.; M. SIGRIST and O. SY. 1990. Ripening of mangoes following low temperature storage. *J. of the Amer. Soc. for Hort. Sci.* 115:430-434.
- MUÑOZ, M. 2007. *Valoración del Esfuerzo Realizando Distintos tipos de Ejercicios Mediante la Medición de Estrés Oxidativa y el Perfil Esteroideo Urinario.* Universidad de Extremadura servicio de publicaciones. España. 127 p.
- MUÑOZ, A.; RAMOS, D.; ALVARADO, C. y CASTAÑEDA, B. 2007. Evaluación de la Capacidad Antioxidante y Contenido de Compuestos Fenólicos en

Recursos Vegetales Promisorios. Rev Soc Quím Perú. 73, N° 3 (142-149).

- MURAKAMI, M.; YAMAGUCHI, T.; TAKAMURA, H. y MATOBA, T. 2004. Effects of Termal Treatmen on Radical – Scavenging Activity of Single and Mixed Polyphenolic Compounds. Journal of Food Science. Vol. 69 Nr. 1. FCT7 – FCT10.
- MURILLO, E. 2006. Actividad Antioxidante “In Vitro” de las bebidas de frutas. Universidad de Panamá, Instituto de Alimentación y Nutrición (IANUT), Laboratorio Bioquímica y Nutrición. Alfa Editores Técnicos. p 20 – 27.
- NEYRA, S. 2006. “EL NONI: cultivo, derivados y aplicaciones”. Ediciones Ripalme E.I.R.L. Lima – Perú . 135 p.
- PALMER, J. 1979. The Banana. In Tropical Foods, Chemistry and Nutrition. V – 2. S. L. Inglaterra. p 625 – 657.
- PARRA, A. y HERNÁNDEZ, J. 1997. Fisiología poscosecha de frutas y hortalizas. Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. p 5-32.
- PAREDES, F. y ROCA, J. 2002. Bioquímica, Influencia de los radicales libres en el envejecimiento celular. OFFARM. Vol. 21 Num. 7. p 96 – 100.
- PARK, Y.; JUNG, S.; KANG, S.; DRZEWIECKI, J.; NAMIESNIK, J. y HARUENKIT, R. 2006. *In vitro* Studies of Polyphenols, antioxidants and Other Dietary Indices in Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) International Journal of Food Science and Nutrition. 57: p 107-22.
- PELLIGRINI, N.; RE, R.; YANG, M. y RICE-EVANS, C. 1999. Screening of Dietary Carotenoids and Carotenoid-Rich Fruit Extracts of Antioxidant

- Activities Applying 2,2-Azinobis (3-Ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid) Radical Cation Decolorization Assay. *Methods in Enzymology*. 299: p 379 – 391.
- POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N Y GORDON, M. 2001. Antioxidantes de los Alimentos Aplicaciones Prácticas. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. España. 364 p.
- POTTER, N. 1978. La Ciencia de los Alimentos. Edit. Edutex. México, D.F. 749 p.
- PRIMO, Y. 1997. Química Agrícola: Alimentos. Edit. Alambra, S. A. Madrid. España. 478 p.
- REATEGUI, D. 2003. Composición Física, Química y Actividad Antioxidante del Agua de dos Variedades de Coco (*Cocos lucífera L.*). Tesis para optar el Título de Ingeniero. Facultad de Ingeniera en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María, Perú. 72 p.
- REID, M. 2002. Maturation and maturity indices. pp. 55-62. En: Kader, A.A. (ed.) Postharvest technology of horticultural crops. 3th edition. University of California, Agricultural and Natural Resources, Publication 3311. Oakland, California. 535 p.
- RODRIGUEZ, P.; MENÉNDEZ, L. y TRUJILLO, L. 2001. Radicales Libres en la Biomedicina y Estrés oxidativo. Instituto Superior de Medicina Militar “Dr. Luís Díaz Soto”. *Revista Cubana Médica Militar*. 30 (1): 36 – 44.
- SACHS, L. 1978. Estadística Aplicada. Edit. Labor S. A. Barcelona, España. p 323 – 381.

- SAENZ, M. 1993. I Curso Internacional de Fisiología Poscosecha. Convenio: Universidad Nacional Agraria de la Selva y Universidad de Costa Rica – RITEP. Tingo María. Perú. 285 p.
- SALISBURY, F. y ROSS, W. 1992. Fisiología de las Plantas. Editorial Paraninfo S.A. Madrid España. 523 p.
- SANDOVAL, M.; OKUHAMA, N.; ANGELES, F.; MELCHOR, V.; CONDEZO, L.; LAO, J. y MILLER, M. 2001. Antioxidant Activity of the Cruciferous Vegetable Maca (*Lepidium meyenii*). Publicación aceptada. Food Chemistry. p 1 – 23.
- SANTIAGO, B.; ROJAS, A.; RUIZ, J. y VIT, P. 2008. Composición Físico Química del Fruto Maduro y Verde del Noni *Morinda citrifolia* L. I Jornadas de Aseguramiento de la Calidad de Alimentos. Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de los Andes. Mérida, Venezuela. 46 p.
- SENTURK, UK.; GUNDUZ, F.; KURU, O.; KOCER, G.; OZKAYA, YG.; YESILKAYA, A.; BOR-KUCUKATAY, M.; UYUKLU, M.; YALCIN, O y BASKURT, OK. 2005. Exercise – induced oxidative stress leads hemolysis in sedentary but not trained humans. J Appl Physiol 99. p 1434 – 1441.
- SERRA, E. y TRIBO, M. 1991. Antioxidantes. Nutrición Clínica. Escuela de Nutrición. Universidad de Granada. Actualidad Dermatológica. p 21 – 26.
- SERRA, J. 2006. El Noni. Farmacia Serra Mandri, Especialistas en Homeopatía y Medicina Natural. [En línea]: <http://www.farmaciaserra.com/welCb.asp>

- SHAHIDI, F. y NACZK, M. 1995. Foods phenolics. Sources, Chemistry, Effects, Application. Tecnnomic, Publishing CO. INC. cds. Lancaster. Pennsylvania, USA.
- SIES, H. 1997. Antioxidants in disease mechanisms and therapy vol 38 USA Academia Press Inc. 293 p.
- SIES, H. y STAHL, W. 1995. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. Am J Clin Nutr 62, 1315S – 1321S.
- SOLOMON, N. 1998. Noni: Nature's Amazing Healer. Woodland Books, Pleasant Grove, UTA.
- SOTO, J. 2005. Detección de Fitoquímicos, contenido de Vitamina C y Ácido fólico en Chironja (*Citrus sinensis* x *Citrus paradisi*) injertada en diferentes patrones de cítrica. Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de MAESTRO EN CIENCIA Universidad de Puerto Rico Recinto Universitario de Mayagüez Facultad de Ciencias Agrícolas
- TORRES, M.; MARQUEZ, M.; SUTIL, R.; DE YÉPEZ, C.; LEAL DE GARCIA, M.; MUÑOZ, M. y GOMEZ, M. 2002. Aspectos Farmacológicos Relevantes de las Vitaminas Antioxidantes (E, A y C). Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica. ISSN 0798-0264. AVFT Vol.21 N° 1. Caracas Venezuela.
- TRIBO, M. 1994. Principios Activos de Antienvjecimiento por Vía Oral y Local. Grupo Hospitalario de la Pitie-Salpatriere. Unidad de Dermatología. Paris. Actualidad Dermatológica. p 329 – 334.

- VARGAS, A.; RIVERA, A. y NARVÁEZ, C. 2005. Capacidad Antioxidante Durante la Maduración de Arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh). Revista Colombiana de Química, Volumen 34, Nº 1. Colombia. p 57 – 65.
- VELÁSQUEZ, M; PRIETO, B y CONTRERAS, R. 2004. El Envejecimiento y los Radicales Libres. Ciencias 75. México. p 37-43.
- VILAPLANA, M. 2007. Antioxidantes Presentes en los Alimentos. Vitamina, Minerales y Suplementos. Ámbito Farmacéutico Nutrición. OFFARM. Volumen 26. Nº 10. p 79 – 86.
- VILLANUEVA, J. 2003. Antocianinas, Acido Ascórbico, Polifenoles Totales y Actividad Antioxidante en la Cáscara de Camu Camu (*Myrciaria dubia* McVaugh H.B.K). Tesis para optar el Título de Ingeniero. Facultad de Ingeniera en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María, Perú. 74 p.
- WILLS, R. 1984. Fisiología y Manipulación de Frutas y Hortalizas post-recolección. Edit. Acribia, S. A. Zaragoza, España. 195 p.
- WILLS, R.; LEE, T.; MC GLASSON, B.; GRAHAM, D. 1984. Fisiología y Manipulación de Frutas y Hortalizas Post-Recolección. Zaragoza, España. Acribia. p.18-22, 43-46, 81-83.
- WILLS, R.; LEE, T.; MC GLASSON, W.; HALL, E. y GRAHAM, D. 1989. Fisiología y manipulación de frutas y hortalizas post-recolección. Editorial ACRIBIA, p.1-10
- WILLS, R., B. MCGLASSON, D. GRAHAM y D. JOYCE. 1998. Postharvest: an introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals. CAB International, Nueva York. 262 p.

- WONG, D. 1995. Química de los Alimentos Mecanismo y Teoría. Edit. Acribia, S.A. Zaragoza, España. 476 p.
- ZIN, Z.; ABDUL-HAMID, A. y OSMAN, A. 2002. Antioxidative Activity of Extracts from Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) Root, Fruit and Leaf. Department of Food Science, Faculty of Food Science and Biotechnology, Universiti Putra Malaysia, UPM 43400, Serdang, Selangor, Malaysia Food Chemistry 78: p 227–231.

X. ANEXO

ANEXO I

Cuadro 10. ANVA del análisis de humedad

Fuente	GL	SC	CM	FC	sig.
Estado de madurez	2	3,570724	1,785362	15,59	*
Error experimental	6	0,687021	0,114503		
Total	8	4,257745			

$R^2 = 0,8386$ $CV = 0,3975$ $SEM = 0,3383$ Promedio = 85,1252

Cuadro 11. ANVA del análisis de proteína

Fuente	GL	SC	CM	FC	Sig.
Estado de madurez	2	0,677333	0,338666	121823	*
Error experimental	6	0,000016	0,000002		
Total	8	0,677350			

$R^2 = 0,9999$ $CV = 0,0323$ $SEM = 0,0016$ Promedio = 5,1506

Cuadro 12. ANVA del análisis de grasa

Fuente	GL	SC	CM	FC	Sig.
Estado de madurez	2	0,000358	0,000179	0,08	n.s.
Error experimental	6	0,012925	0,002154		
Total	8	0,013283			

$R^2 = 0,0269$ $CV = 12,3367$ $SEM = 0,0464$ Promedio = 0,3762

Cuadro 13. ANVA del análisis de fibra

Fuente	GL	SC	CM	FC	Sig.
Estado de madurez	2	1,969479	0,984739	92,24	**
Error experimental	6	0,064056	0,010676		
Total	8	2,033536			

$R^2 = 0,9685$ $CV = 1,9290$ $SEM = 0,1033$ Promedio = 5,3562

Cuadro 14. ANVA del análisis de cenizas

Fuente	GL	SC	CM	FC	Sig.
Estado de madurez	2	0,753550	0,376775	638,70	**
Error experimental	6	0,003539	0,000589		
Total	8	0,757090			

$R^2 = 0,9953$ $CV = 2,9567$ $SEM = 0,0242$ Promedio = 0,8214

Cuadro 15. ANVA del análisis de carbohidratos

Fuente	GL	SC	CM	FC	Sig.
Estado de madurez	2	24,371796	12,185898	Infin	**
Error experimental	6	0,000000	0,000000		
Total	8	24,371796			

$R^2 = 1,0000$ $CV = 0$ $SEM = 0$ Promedio = 3,1703

Cuadro 16. ANVA del análisis de pH

Fuente	GL	SC	CM	FC	Sig.
Estado de madurez	2	0,911666	0,455833	1282,03	*
Error experimental	6	0,002133	0,000355		
Total	8	0,913800			

$R^2 = 0,9976$ $CV = 0,4358$ $SEM = 0,0188$ Promedio = 4,3266

Cuadro 17. ANVA del análisis de sólidos solubles

Fuente	GL	SC	CM	FC	Sig.
Estado de madurez	2	18,500000	9,250000	3700,00	**
Error experimental	6	0,015000	0,002500		
Total	8	18,515000			

$R^2 = 0,9991$ $CV = 0,5033$ $SEM = 0,0500$ Promedio = 9,9333

Cuadro 18. ANVA del análisis de acidez

Fuente	GL	SC	CM	FC	Sig.
Estado de madurez	2	0,154560	0,077280	2190,48	**
Error experimental	6	0,000211	0,000035		
Total	8	0,154772			

$R^2 = 0,9986$ $CV = 1,4275$ $SEM = 0,0059$ Promedio = 0,4160

Cuadro 19. ANVA del análisis de índice de madurez

Fuente	GL	SC	CM	FC	Sig.
Estado de madurez	2	132,21540	66,10770	219,92	*
Error experimental	6	1,80360	0,30060		
Total	8	134,01900			

$R^2 = 0,9865$ $CV = 2,1872$ $SEM = 0,5482$ Promedio = 25,0666

ANEXO II

Cuadro 20. ANVA del contenido de ácido ascórbico en el jugo de noni en tres estados de madurez.

Fuente	GL	SC	CM	FC	Sig.
Estado de madurez	2	1956,573483	978,286741	260,12	*
Error experimental	6	22,565594	3,760932		
Total	8	1979,139077			

$R^2 = 0,988$ $CV = 0,834$ $SEM = 1,939$ Promedio = 232,3087

ANEXO III

Cuadro 21. ANVA del contenido de polifenoles totales en el jugo de noni en tres estados de madurez.

Fuente	GL	SC	CM	FC	Sig.
Estado de madurez	2	6110,222689	3055,111344	25,96	*
Error experimental	6	706,208533	117,701422		
Total	8	6816,431222			

$R^2 = 0,8963$ $CV = 5,1648$ $SEM = 10,8490$ Promedio = 210,0556

ANEXO IV

Cuadro 22. ANVA de la capacidad de inhibir el radical DPPH en el jugo de noni en tres estados de madurez.

Fuente	GL	SC	CM	FC	Sig.
Estado de madurez	2	14053,0092	7026,5046	429,30	**
Error experimental	24	392,8171	16,3674		
Total	26	14445,8262			

$R^2 = 0,9728$ $CV = 2,4052$ $SEM = 4,0457$ Promedio = 168,2050

Cuadro 23. ANVA de la capacidad de inhibir el radical ABTS^{o+} en el jugo de noni en tres estados de madurez.

Fuente	GL	SC	CM	FC	Sig.
Estado de madurez	2	11521,09701	5760,54850	575,32	**
Error experimental	24	240,30687	10,01279		
Total	26	11761,40388			

$R^2 = 0,9795$ $CV = 1,8123$ $SEM = 3,1642$ Promedio = 174,5941

Cuadro 24. ANVA de la capacidad de inhibir el radical peroxilo en el jugo de noni en tres estados de madurez.

Fuente	GL	SC	CM	FC	Sig.
Estado de madurez	2	3167,7119	1583,8559	94,90	**
Error experimental	24	400,5726	16,6905		
Total	26	3568,2			

$R^2 = 0,8877$ $CV = 3,4724$ $SEM = 4,0854$ Promedio = 117,6543