

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción

“Extracción, caracterización por CG-EM y actividad antibacteriana del aceite esencial obtenido mediante hidrodestilación de *Passiflora edulis* Flavicarpa de origen ecuatoriano.”

TESIS DE GRADO

Previo a la obtención del Título de:

INGENIERO DE ALIMENTOS

Presentada por:

Arnold Fernando Ortega Calle

GUAYAQUIL – ECUADOR

Año 2015

AGRADECIMIENTO

A Dios y al Divino niño, por ser una parte muy importante en mi vida, lo que me ha permitido culminar mis estudios y mantenerme en el buen camino.

A mis padres, Tania y Luis, a mi hermana Susan, quienes con su amor y valores fueron mi mayor apoyo e inspiración durante mi carrera, brindándome siempre las mejores oportunidades y consejos.

A mis panas de la décimo tercera: Jorge G, Alfredo, J Rubio, Aurita, Wendy y Viviana quienes fueron mi empujón y apoyo durante mi vida universitaria.

A mi director de tesis Ing. Iván Chóez Guaranda por haber confiado en mí y ser una guía en el presente trabajo. A la PhD.

Migdalia Miranda quien fue de vital ayuda para la culminación de este trabajo. Al CIBE (Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador) por permitirme desarrollar mi trabajo de graduación, en especial al área de Bioproductos.

Arnold Fernando Ortega Calle

DEDICATORIA

A Dios y al Divino niño, quienes con sus bendiciones me permitieron culminar este trabajo. A mis padres por su lucha incansable para que sea un hombre de bien, por los valores que me transmitieron y por transmitirse la perseverancia para la culminación de mis estudios. A mi hermana Susan por todo el apoyo brindado. A una persona especial J.G.V.V por su ayuda incondicional. A todos mis amigos de la Universidad quienes de una u otra manera contribuyeron a mi desarrollo profesional.

Arnold Fernando Ortega Calle

TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

M.Sc. Jorge Duque R.
DECANO DE LA FIMCP
PRESIDENTE

Ing. Iván Chóez G.
DIRECTOR DE TESIS

M.Sc. Haydee Torres C.
VOCAL

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual del mismo a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL”

(Reglamento de Graduación de la ESPOL).

Arnold Fernando Ortega Calle

RESUMEN

En la actualidad nuestro país es considerado uno de los mayores productores de maracuyá, siendo la industria alimenticia la que utiliza el jugo de esta fruta. No obstante, la semilla y la cáscara son considerados desechos agroindustriales que pueden ser aprovechados.

Existen estudios que demuestran que extractos de semilla de maracuyá poseen compuestos con actividad antibacteriana y antioxidante, motivo por el cual se procedió a realizar este estudio con la finalidad de determinar si los aceites esenciales de esta fruta poseen compuestos con utilidad en la industria alimenticia.

Para el desarrollo de esta investigación se realizó la medición de las características físicas del fruto (longitud, diámetro y color), se midieron los grados Brix y se calculó la humedad, se procedió a la obtención de las diferentes partes del fruto: semilla, jugo y cáscara previa a la extracción de aceites esenciales que se realizó mediante hidrodestilación asistida por radiación de microondas. Se determinó además el rendimiento experimental de los aceites esenciales. La identificación de compuestos químicos se

realizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

Los resultados de los rendimientos experimentales de cada parte de la fruta se cuantificaron a través de un balance de masa y se realizaron análisis estadísticos para comparación de medias entre rendimientos utilizando el programa estadístico MINITAB 15, donde se determinó que la proporción de muestra/agua si influye en el proceso de extracción. Se detectaron un total de 60 compuestos, de los cuales se hallaron 18 compuestos en la semilla, 41 en el jugo y 16 en la cáscara, dando un total de 5 monoterpenos, 7 sesquiterpenos, 2 aldehídos, 7 alcanos, 15 compuestos alifáticos, 11 esterés, 3 ácidos grasos esterificados y 3 ácidos grasos libres y otros compuestos minoritarios. Se encontró ionol en las tres partes del fruto, se evidenció un porcentaje de área de 12,8% para semilla, 2,8% para jugo y 13,15% para cáscara. Se detectaron además otros compuestos de mucha importancia como: nerolidol, linalool y alfa terpinol.

Finalmente, se realizó el análisis antibacteriano con el microorganismo *Escherichia coli*. Sin embargo, los resultados demostraron que no hubo inhibición para ninguna de las concentraciones estudiadas.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|------|
| RESUMEN | ii |
| ÍNDICE GENERAL..... | iv |
| ABREVIATURAS | vi |
| SIMBOLOGÍA | vii |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | viii |
| ÍNDICE DE TABLAS | ix |
| INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| CAPÍTULO 1..... | 1 |
| 1. GENERALIDADES | 1 |
| 1.1. <i>Passiflora edulis</i> Flavicarpa | 1 |
| 1.1.1. Producción en el Ecuador | 6 |
| 1.1.2. Valor nutricional..... | 10 |
| 1.1.3. Usos | 11 |
| 1.2. Aceites esenciales | 13 |
| 1.2.1. Aplicaciones | 17 |
| 1.3. Hidrodestilación | 22 |
| 1.4. Cromatografía de gases | 24 |
| 1.5. Espectrometría de masas | 27 |
| CAPÍTULO 2..... | 1 |
| 2. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 1 |
| 2.1. Diseño Experimental..... | 1 |
| 2.1.1. Definición de las variables de respuesta | 1 |
| 2.2. Materiales, Reactivos y Equipos | 31 |
| 2.3. Metodología | 32 |
| | 36 |

| | |
|---|----|
| 2.3.1. Balance de Masa..... | 37 |
| 2.3.2. Extracción de aceites esenciales de semilla, cáscara y jugo de <i>Passiflora edulis</i> Flavicarpa | 44 |
| 2.3.3. Caracterización química mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas..... | 45 |
| 2.3.4. Actividad antibacteriana | 45 |
| CAPÍTULO 3..... | 30 |
| 3. ANÁLISIS DE RESULTADOS | 30 |
| 3.1. Evaluación del diseño experimental | 30 |
| 3.2. Rendimiento experimental | 51 |
| 3.3. Composición química del aceite esencial de <i>Passiflora edulis</i> Flavicarpa..... | 54 |
| 3.4. Análisis de actividad antibacteriana..... | 64 |
| CAPÍTULO 4..... | 66 |
| 4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | 66 |
| 4.1. Conclusiones | 66 |
| 4.2. Recomendaciones | 67 |

APÉNDICES

BIBLIOGRAFÍA

ABREVIATURAS

| | |
|-------|---|
| CIBE | Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador |
| CMI | Concentración mínima inhibitoria |
| ESPOL | Escuela Superior Politécnica del Litoral |
| INIAP | Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias |
| UFC | Unidades Formadoras de Colonias |

SIMBOLOGÍA

| | |
|-----|----------------------------------|
| cm | Centímetro |
| °C | Grados Celsius |
| g | Gramo |
| H | Hidrógeno |
| He | Helio |
| Ho | Hipótesis nula |
| Hi | Hipótesis alterna |
| Kg | Kilogramo |
| mg | Miligramo |
| µm | Micrómetro |
| µl | Microlitro |
| Min | Minutos |
| ml | Mililitros |
| mm | Milímetro |
| µg | Microgramo |
| N | Nitrógeno |
| O | Oxígeno |
| P | Valor P o nivel de significancia |
| Tm | Toneladas métricas |
| % | Porcentaje |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1: Fruto Maracuyá..... | 1 |
| Figura 2: Porcentaje de maracuyá producida en Ecuador en el año 2012..... | 7 |
| Figura 3: <i>Passiflora edulis</i> Flavicarpa | 8 |
| Figura 4: <i>Passiflora edulis</i> | 9 |
| Figura 5: <i>Passiflora edulis</i> Sims..... | 9 |
| Figura 6 : Partes de un cromatógrafo de gases | 27 |
| Figura 7: Obtención de semilla, jugo y cáscara de <i>passiflora edulis</i> Flavicarpa | 36 |
| figura 8: Balance de masa de semilla de maracuyá..... | 38 |
| figura 9: Balance de masa de jugo de maracuyá | 40 |
| figura 10: Balance de masa de cáscara de maracuyá | 41 |
| Figura 11: Diagrama de flujo para la obtención de aceite esencial de maracuyá..... | 43 |
| Figura 12: Estadística descriptiva del rendimiento de aceite esencial para semilla..... | 48 |
| Figura 13: Estadística descriptiva del rendimiento de aceite esencial para jugo..... | 49 |
| Figura 14: Estadística descriptiva del rendimiento de aceite esencial para la proporción cáscara/agua | 50 |
| Figura 15: Cromatograma gaseoso analítico del aceite esencial de las semillas de maracuyá | 54 |
| Figura 16: Cromatograma gaseoso analítico del aceite esencial del jugo de maracuyá | 56 |
| Figura 17: Cromatograma gaseoso analítico del aceite esencial de la cáscara de maracuyá | 59 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1: Clasificación Taxonómica de la maracuyá | 4 |
| Tabla 2: Composición nutricional de la maracuyá..... | 11 |
| Tabla 3: Aceites esenciales y sus aplicaciones más comunes | 19 |
| Tabla 4: Aceites esenciales y sus componentes con actividad microbiana .. | 22 |
| Tabla 5: Abreviaciones de entradas y salidas para el balance de masa..... | 37 |
| Tabla 6: Porcentaje de rendimiento para la evaluación experimental..... | 48 |
| Tabla 7: Parámetros de recolección de <i>Passiflora edulis</i> Flavicarpa | 51 |
| Tabla 8: Porcentaje de rendimiento de los aceites esenciales de semilla, jugo y cáscara de <i>Passiflora edulis</i> Flavicarpa | 53 |
| Tabla 9: Composición química del aceite esencial de semilla de <i>Passiflora edulis</i> Flavicarpa..... | 55 |
| Tabla 10: Composición química del aceite esencial de jugo de <i>Passiflora edulis</i> Flavicarpa..... | 58 |
| Tabla 11: Composición química del aceite esencial de Cáscara de <i>Passiflora edulis</i> Flavicarpa..... | 60 |
| Tabla 12: Composición química de los aceites esenciales de semilla, jugo y cáscara de <i>Passiflora edulis</i> Flavicarpa..... | 62 |
| Tabla 13: Actividad antibacteriana del aceite esencial de semilla y cáscara de <i>Passiflora edulis</i> Flavicarpa | 65 |

INTRODUCCIÓN

Para la extracción, caracterización por CG-EM y actividad antibacteriana del aceite esencial obtenido mediante hidrodestilación de *Passiflora edulis* Flavicarpa, esta tesis de grado se ha desarrollado bajo los siguientes tópicos:

En el capítulo 1, se hace una breve reseña histórica del cultivo de maracuyá, así como también la situación actual de este producto, los principales usos además de una explicación conceptual de los aceites esenciales y sus aplicaciones. También se referencia teóricamente el proceso de hidrodestilación, la cromatografía de gases y la espectrometría de masas.

En el capítulo 2 se describen los procesos utilizados en cada uno de las etapas de esta investigación, tanto para la medición de las propiedades físico-químicas y morfológicas del fruto, la extracción del aceite esencial mediante hidrodestilación asistido por radiación microondas, las condiciones para identificar los compuestos mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas y finalmente se detallan los

parámetros para el análisis microbiológico con la finalidad de evaluar la inhibición antibacteriana en *E. coli*.

Con los resultados obtenidos de los procedimientos experimentales en el capítulo tres se realiza un análisis estadístico de datos obtenidos a fin de poder establecer diferencias significativas entre los rendimientos de las diferentes partes del fruto, luego se realiza una comparación de los compuestos químicos obtenidos de los aceites esenciales extraídos y finalmente observar si los aceites esenciales poseían actividad antibacteriana frente a uno de los patógenos que comúnmente causa daño a la salud humana.

En el capítulo 4 se presentan las conclusiones a las que se llegaron en base a los resultados experimentales obtenidos y además se proporcionan las recomendaciones respectivas a fin de mejorar los diferentes procesos que se desarrollaron en cada etapa de la investigación.

CAPÍTULO 1

1. GENERALIDADES

1.1. *Passiflora edulis* Flavicarpa



FIGURA 1: FRUTO MARACUYÁ

FUENTE: ARNOLD ORTEGA CALLE

La maracuyá (ver FIGURA 1) es originaria de la región Amazónica, específicamente de Brasil. En la actualidad se cultiva en Australia, Nueva Guinea, Kenia, Sri Lanka, Sudáfrica, India, Taiwán, Tailandia, Perú, Ecuador, Colombia y Venezuela (1).

El nombre *Passiflora*, proviene del latín *passio* (passion) y *floris* (flor), se debe a la semejanza entre los elementos de la flor y los diversos instrumentos de la Pasión de Cristo: la corona floral representaría la corona de espinas, los estambres asemejan 5 llagas, el pistilo corresponde a la cruz, los estigmas a los 3 clavos y las braceas representaría la Santísima Trinidad (2).

Clasificación Taxonómica

La maracuyá morada o *Passiflora edulis* Sims, a través de una mutación dió origen a la maracuyá amarilla o *Passiflora edulis* Flavicarpa (3), en la TABLA 1 se muestra su clasificación taxonómica:

TABLA 1: CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA MARACUYÁ

| Reino | Vegetal |
|--------------|-----------------------------------|
| Orden | Passiflorales |
| Familia | Passifloraceae |
| Género | Passiflora |
| Especie | <i>P. edulis</i> forma Flavicarpa |

FUENTE: GUÍA DE CULTIVO DE MARACUYÁ, 2002

Descripción Botánica y Características

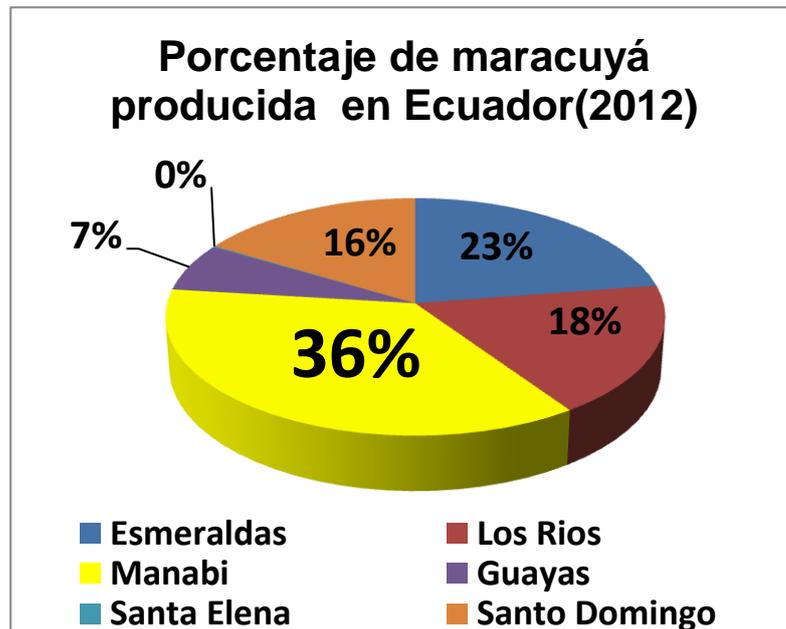
La maracuyá es una planta que se caracteriza por ser enredadora, trepadora y de tallos marcadamente aristados. La flor es hermafrodita, consisten en 3 sépalos de color blanco, 5 pétalos blancos y una corona formada por un abanico de filamentos de color púrpura; la función de esta es atraer a los insectos polinizadores. Presenta raíz, tallos y hojas de color verde. Las hojas miden de 7 a 10 cm de largo, con márgenes finamente dentados. El tallo en esta especie es circular aunque en otras especies es cuadrado. Los zarcillos son redondos y en forma de espiral y son los encargados de que la planta tenga el hábito de crecimiento trepador.

Esta se desarrolla de mejor manera en zonas tropicales y subtropicales, con temperaturas que fluctúan entre 23 y 28°C y con una precipitación que oscila de 600 a 1200 mm.

El fruto es una baya de forma ovoide con un diámetro de 0.04-0.08 m y de 0.06-0.08 m de largo, la base y el ápice son redondeados, la corteza es de color amarillo, de consistencia dura; el pericarpio es grueso, contiene de 200-300 semillas, la misma que está rodeada de una membrana mucilaginosa en donde se encuentra el jugo que por su naturaleza es aromático (4).

1.1.1. Producción en el Ecuador

Las principales zonas de cultivo de maracuyá en el Ecuador están determinadas por la temperatura, lluvia, tipo de suelo y logística, al ser una fruta tropical se encuentra ampliamente distribuida en nuestro territorio, especialmente en la región costa siendo la provincia de Manabí la mayor productora de maracuyá con 3944 Tm producidas (cantones Sucre, parroquias San Isidro y San Vicente), teniendo niveles bastante aceptables de producción la provincia de Los Ríos con 1.938 Tm (cantones Quevedo y Mocache) y Esmeraldas con 2.440 Tm (Quinindé y la Concordia) (5). Estas provincias son las que poseen mejores condiciones climáticas para la producción de maracuyá, como se puede observar en la FIGURA 2.



**FIGURA 2: PORCENTAJE DE MARACUYÁ PRODUCIDA EN ECUADOR
EN EL AÑO 2012**

FUENTE: VISUALIZADOR DE ESTADÍSTICAS AGROPECUARIA DEL ECUADOR (ESPAC)

Variedades cultivadas en Ecuador

La maracuyá, de acuerdo a sus características se agrupa en dos variedades que son: *Passiflora edulis* Flavicarpa y *Passiflora edulis* Sims

Grupo Flavicarpa

***Passiflora edulis* Flavicarpa (maracuyá amarillo).**- (ver FIGURA 3) Originaria de Australia, presenta frutos de color amarillo con un jugo bastante ácido y muy aromático de sabor (1).



**FIGURA 3: PASSIFLORA EDULIS
FLAVICARPA
(MARACUYÁ AMARILLO)**

**FUENTE: GUÍA DE CULTIVO DE
MARACUYÁ, 2002**

***Passiflora edulis* Flavicarpa (INIAP 2009).**- (ver FIGURA 4)

Originaria de Brasil, presenta unos frutos vistosos y de mayor tamaño que los de la variedad original, fue creada para desarrollar una mayor productividad que la variedades tradicionales cultivadas por los agricultores (5).



FIGURA 4: *PASSIFLORA EDULIS*
FUENTE: GUIA DEL CULTIVO DE
MARACUYÁ, 2002

***Passiflora edulis* Sims** (maracuyá rojo o morado).- (ver

FIGURA 5) Originaria de Australia, presenta frutos de color rojo. Esta variedad crece en zonas templadas según (1).



FIGURA 5: *PASSIFLORA EDULIS*
SIMS
FUENTE: GUIA DEL CULTIVO DE
MARACUYÁ, GARCIA, 2002

1.1.2. Valor nutricional

La composición de la maracuyá es de 50-60% de cáscara, 30-40% de jugo y de 10-15% de semillas (3). El fruto posee un alto valor energético y está compuesto por hidratos de carbono, proteína, vitaminas y minerales entre los cuales tenemos: vitamina A, tiamina, riboflavina, calcio, hierro y fósforo. (3) y (6).

Contiene niacina, la cual se usa en el tratamiento del colesterol y el perfecto estado de los nervios, también se ha descubierto serotonina la cual ayuda al buen funcionamiento del sistema nervioso. Es importante destacar la elevada cantidad de vitamina A que posee la cual ayuda en la funcionalidad de los órganos oculares (6)

Presenta un bajo contenido en grasas lo que hace que se use en dietas para adelgazamiento. Además presenta propiedades tranquilizantes y desintoxicantes, no solamente por su contenido de vitamina C y por la niacina; estos elementos parecen otorgarles propiedades anticancerígenas (6) y (7).

A continuación en la TABLA 2 se muestra la composición nutricional del jugo de maracuyá.

TABLA 2: COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LA MARACUYÁ

| Componente | Cantidad |
|---------------------|-----------------|
| Valor energético | 78 calorías |
| Humedad | 85% |
| Proteínas | 0,8% |
| Grasas | 0,6 g |
| Hidratos de carbono | 2,4 g |
| Fibra | 0,2 g |
| Cenizas | Trazas |
| Calcio | 5,0 mg |
| Hierro | 0,3 mg |
| Fosforo | 18,0 mg |
| Vitamina A activa | 684 mg |
| Tiamina | Trazas |
| Riboflavina | 0,1 mg |
| Niacina | 2,24 mg |
| Ácido ascórbico | 20 mg |

FUENTE: GUÍA DE CULTIVO DE MARACUYÁ, 2002

1.1.3. Usos

Los usos de la maracuyá son diversos, dada su principal presentación en el mercado exterior ya sea como jugo simple

o concentrado, el mismo que es usado de distintas formas en la industria de bebidas, en la industria láctea y en la de repostería, hasta su consumo en nuestro mercado (8).

La maracuyá se cultiva principalmente para aprovechar el jugo del fruto el cual puede ser consumido en refrescos, o ser industrializado para la elaboración de dulces, licores, confites, néctares, jaleas y concentrados. La cáscara es utilizada para preparar raciones de ganado bovino, pues es rica en aminoácidos, proteínas y carbohidratos. También contiene pectina la cual se utiliza en la industria de la confitería para darle consistencia a mermeladas y gelatinas, las hojas son materia prima en la industria farmacéutica, en la perfumería y en la cosmetología y la belleza de la flor permite que sea usada como planta de ornato (3).

La semilla contiene un 20-25% de aceite, que según el instituto de tecnología y alimentos de Brasil se puede refinar para ser usado con fines alimenticios, ya que su calidad se asemeja al de la semilla de algodón por su valor alimenticio y digestibilidad. Otro subproducto que se extrae es la maracuyina, un tranquilizante muy apreciado en Brasil. Finalmente, su agradable aroma y su gran contenido de vitamina C permite que sea usado como base para la

elaboración de productos tales como: dulces, base de yogurt, base de helados, complemento de productos vitamínicos y para general nuevos sabores en la industria de jugos y bebidas (3).

1.2. Aceites esenciales

Los aceites esenciales son mezclas de sustancias obtenidas de plantas, que presentan como características principales una compleja composición química y un fuerte olor aromático. Proviene fundamentalmente del metabolismo secundario de las plantas, en las que ejercen funciones de defensa y atracción. Se pueden obtener principalmente de las hojas, semillas, raíces, el fruto y las flores.

Se conocen alrededor de 4000 aceites esenciales distintos, sin embargo no todas las plantas poseen aceites esenciales y algunas tienen una concentración tan baja que hace difícil la etapa de extracción (9). En general, el rendimiento de la extracción es muy bajo ya que varía entre el 0.01% y el 2%. Al ser sustancias volátiles, los aceites esenciales deben estabilizarse para asegurar su conservación.

Los aceites esenciales pueden considerarse una mezcla compleja de varios compuestos, los cuales pertenecen a diferentes grupos de la

química orgánica: hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, cetonas, esterres, éteres y fenoles (10)

Clasificación de los aceites esenciales

Los aceites esenciales se clasifican con base a diferentes criterios: consistencia, origen y naturaleza química de los componentes mayoritarios.

De acuerdo a su consistencia los aceites esenciales se clasifican en esencias fluidas, bálsamos y oleorresina.

- **Las esencias fluidas** se consideran líquidos volátiles a temperatura ambiente.
- **Los bálsamos** son de consistencia más espesa, son poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización.
- **Las oleorresinas** presentan el aroma de las plantas en forma concentrada y son típicamente líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas.

De acuerdo a su origen los aceites esenciales se clasifican como naturales, artificiales y sintéticos.

- **Los naturales** se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores, por su bajo rendimiento son muy costosas.
- **Las artificiales** se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes.
- **Los aceites esenciales sintéticos** son producidos por la combinación de sus componentes, la mayoría de las veces son producidos por procesos de síntesis química. Son mucho más económicos y por lo tanto son más utilizados como aromatizantes y saborizantes.

Desde el punto de vista químico, los aceites esenciales se pueden clasificar de acuerdo al tipo de sustancias, las mismas que son los componentes mayoritarios.

- **Monoterpenoides** son aceites esenciales ricos en monoterpenos (ej. hierbabuena, salvia).
- **Fenilpropanoides** son aceites esenciales ricos en fenilpropanos (ej. clavo, canela, anís).
- **Sesquiterpenoides** son aceites ricos en sesquiterpenos (ej. copaiba, pino).

Los monoterpenoides se encuentran principalmente en plantas de órdenes ranunculales, violales y primulales, mientras que son escasos en rutales, cornales, lámiales y asterales. Por el contrario, los sesquiterpenoides abundan en magnolias, rutales, cornales y asterales (9).

Composición química de un aceite esencial

Los aceites esenciales están constituidos por muchas sustancias distintas. Generalmente, aunque hay excepciones, los componentes mayoritarios presentes son hidrocarburos terpénicos (sin aroma o con poca contribución al aroma global) y los minoritarios son responsables del aroma característico del aceite esencial y quedan englobados en distintas familias químicas (9).

Hidrocarburos terpénicos: terpenos y terpenoides

- **Aldehídos:** aldehído benzoico, aldehído cinámico, butanal, propanal
- **Ácidos:** acético, palmítico
- **Alcoholes:** linalol, geraniol, mentol
- **Fenoles:** anetol, eugenol
- **Esteres:** acetato de linalilo, acetato de geranilo

- **Cetonas:** tuyona
- **Otros:** éteres, derivados nitrogenados, sulfuros, tioéteres, tioésteres

1.2.1. Aplicaciones

Los aceites esenciales poseen aplicaciones importantes en las siguientes industrias:

Industria Alimentaria

Se emplean para condimentar carnes preparadas, embutidos, sopas, helados, queso, etc. Los aceites más empleados para esta industria son los cítricos como el extraído del naranjo, limón, menta, entre otros. Los mismos que son utilizados en la preparación de bebidas alcohólicas y no alcohólicas, especialmente refrescos. El aceite esencial también se emplea en la producción de caramelos chocolates y otras golosinas (11).

Industria Farmacéutica

Se usan en cremas dentales, analgésicas e inhalantes para descongestionar las vías respiratorias (eucalipto). El eucaliptol es muy empleado en odontología. Son utilizados en la fabricación de neutralizantes de sabor desagradable de muchos medicamentos (naranjas y menta, entre otros) (11).

Industria de Cosméticos

Esta industria emplea los aceites esenciales en la producción de cosméticos, jabones, colonias, perfumes y maquillaje. Aquí podemos citar los aceites de geranio, lavanda, rosas y pachouli (11). Otras aplicaciones comunes de los aceites esenciales las podemos citar en la TABLA 3:

Aceites esenciales y su uso como antimicrobiano

Diversos estudios demuestran que los componentes de menor proporción de los aceites esenciales representan un papel crítico en la actividad antimicrobiana, posiblemente debido a

TABLA 3: ACEITES ESENCIALES Y SUS APLICACIONES MÁS COMUNES

| Especie | Función |
|----------------|---|
| Cedro | Solventes industriales, fragancia para producto de limpieza, saborizantes |
| Menta Espicata | Pasta dentífrica, combinación de sabores |
| Menta Piperita | Enjuague bucal, chicles, saborizantes de comida |
| Lavanda | Fragancias, desodorantes de baño |
| Eucalipto | Remedios para gripe y tos |
| Grosella negra | Saborizante de comidas y bebidas |
| Té | Desodorantes de baño, repelentes de insecto, cosméticos |

FUENTE: R&D PLAN FOR ESSENTIALS OILS AND PLANTS EXTRACTS 2002-2006

un efecto sinérgico entre ellos, de forma que el aceite esencial en su totalidad tiene una mayor actividad que la mezcla de sus principios activos mayoritarios.

Estos estudios consisten en evaluar la concentración mínima inhibitoria (CMI), la misma que impide el crecimiento de la bacteria, confrontando a un número concreto de unidades formadoras de colonias (UFC) en cuestión con el agente antimicrobiano.

En la actualidad, la mayoría de los estudios realizados sobre las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales se han centrado en microorganismos patógenos para el hombre, así como también en los alimentos, por su complicidad en intoxicaciones alimentarias, debido a las alteraciones de propiedades organolépticas y de conservación de alimentos.

Los aceites esenciales por lo general son más activos frente a las bacterias Gram positivas que frente a las Gram negativas, por la interacción que existe entre los aceites esenciales y la estructura de la pared celular y la membrana externa. En el caso de las bacterias Gram negativas que son más sensibles, los aceites esenciales se introducen a través de los lípidos de la membrana celular y mitocondrial alterando su estructura y haciéndola permeable, produciéndose una fuga de iones y otros contenidos celulares, logrando así una muerte celular.

Es importante destacar que los aceites esenciales poseen un alto porcentaje de compuestos fenólicos tales como el carvacrol, timol y el eugenol los mismos que poseen notables propiedades antimicrobianas (10).

Un estudio fitoquímico realizado a una fruta de *Passiflora edulis* Sims demuestra la presencia de compuestos fenólicos, triterpenos, eugenol y aceites volátiles (12).

El eugenol tiene propiedades: antiedémicas, antiácidas, antioxidantes, bactericidas, antifúngicas, antisépticas, antivirales, herbicidas, anestésicas, fragantes y aromatizantes. En la industria alimenticia se lo utiliza como saborizante de comidas y bebidas (13), es importante destacar que el eugenol obtenido de clavo y tomillo causa la desintegración de *E. coli* y *S. typhiurium*.

El timol y el carvacrol que se obtienen a partir del orégano y el tomillo respectivamente son capaces dependiendo de la concentración de inclusión de desintegrar la membrana externa de las bacterias Gram negativas (10).

En la TABLA 4 se presenta los principales aceites esenciales y sus componentes con actividad antimicrobiana:

TABLA 4: ACEITES ESENCIALES Y SUS COMPONENTES CON ACTIVIDAD MICROBIANA

| Nombre científico | Nombre común | Parte | Componente |
|----------------------------|---------------------|--------------|-------------------|
| <i>Cinnamon</i> | Canela | Hojas | Cinamaldehido |
| <i>Oriaganum</i> | Orégano | Hojas | Carvacrol |
| <i>Thymus vulgaris</i> | Tomillo | Flor/hoja | Timol |
| <i>Eucaliptus globulus</i> | Eucalipto | Hoja | Cineol |

FUENTE: ACEITES ESENCIALES UNA ALTERNATIVA A LOS ANTIMICROBIANOS

1.3. Hidrodestilación

Comúnmente llamado destilación por arrastre de vapor, la hidrodestilación es un proceso para extraer el aceite esencial de una planta aromática, usando vapor a presión atmosférica (15). A nivel del laboratorio, el acoplamiento es similar al de una destilación simple, donde en el balón se colocan tanto agua como el material a destilar mediante el uso de sistema de Clevenger.

A nivel industrial es uno de los procesos de más fácil acoplamiento, debido a la cantidad de equipos necesarios en comparación con otras técnicas (14).

En la industria el generador de vapor no forma parte del recipiente donde se almacena la materia prima, es externo y suministra un flujo

constante de vapor. Su presión es superior a la atmosférica, pero el vapor efluente, que extrae el aceite esencial está a la presión atmosférica. La materia prima vegetal es colocada en un hidrodestilador, formando un lecho fijo compactado. El estado de la muestra puede ser entero, molido, cortado o la combinación de estos. El vapor de agua se inyecta con la presión suficiente de manera que pueda vencer la resistencia hidráulica del lecho. El vapor entra en contacto con el lecho, donde se calienta la materia prima y se libera el aceite esencial contenido, el mismo que se evapora por su alta volatilidad. El vapor saturado y el aceite esencial destilan hacia un condensador donde la mezcla es condensada y enfriada, hasta lograr temperatura ambiente. Dicha mezcla a la salida del condensador, se recolecta y se le da un posterior tratamiento requerido (15).

Hidrodestilación asistida por radiación microondas

La hidrodestilación asistida por microondas es una técnica de obtención de aceites mediante el contacto del material vegetal en un reactor (balón de vidrio) con agua y bajo el efecto de la radiación el aceite esencial alojado en los tejidos vegetales es expulsado y es arrastrado por el vapor que luego se condensa. Al utilizarse agua como vehículo de extracción genera el no uso de solventes tóxicos al

medio ambiente. El rendimiento de aceites esenciales es mayor manteniendo la composición de los compuestos volátiles (16).

1.4. Cromatografía de gases

La cromatografía de gases es una técnica usada para la separación de los componentes volátiles y semivolátiles de una muestra. La misma nos permite confirmar la presencia o ausencia de un compuesto en una muestra determinada, esto se lleva a cabo comparando el cromatograma de una sustancia pura con el de la muestra, siempre que las condiciones sean las mismas (17).

En cromatografía de gases, la muestra se inyecta en una fase móvil, la cual es un gas inerte (He, N₂, H₂). En esta fase, los distintos componentes de la muestra pasan a través de la fase estacionaria que se encuentra fijada en una columna, siendo las más utilizadas las columnas capilares. La columna se encuentra dentro de un horno de temperatura.

Cada soluto presente en la muestra tiene una diferente afinidad hacia la fase estacionaria, lo que permite su separación: los componentes fuertemente retenidos por esta fase se moverán lentamente en la fase móvil, mientras que los débilmente retenidos lo harán rápidamente. Un

factor clave en este equilibrio es la presión de vapor de los compuestos. Debido a la diferencia de movilidad de estos componentes, estos se separan en bandas que pueden analizarse tanto cualitativa como cuantitativamente mediante el empleo de detectores específicos (17), (18).

Por su rapidez y buena resolución es aplicada en el análisis de mezclas complejas de hidrocarburos, pesticidas en el suelo, productos vegetales, aromatizantes, saborizantes empleados en alimentos, fragancias, y en ciencias forenses (18).

Tipos de cromatografía de gases

Cromatografía gas-sólido (GSC)

Esta técnica tiene gran aplicación en todos los campos, se basa en una fase estacionaria sólida, produciéndose en la misma la retención de los analitos debido a la adsorción física. Debido a la retención de moléculas activas o polares no es permanente, se presentan colas.

Cromatografía gas- líquido (GLC)

Se basa en la distribución del analito entre una fase gaseosa y una fase estacionaria líquida inmobilizada, la misma que debe ser estable y no volátil sobre la superficie de un sólido inerte (18).

Componentes de un cromatógrafo de gases

Un cromatógrafo de gases presenta los siguientes componentes principales: (ver FIGURA 6)

- Botella de gas portador
- Reguladores de presión
- Filtros de oxígeno y humedad (indicadores de presencia de O₂)
- Inyector (con un sistema para control de temperatura)
- Columna cromatográfica
- Detector (con un sistema para control de temperatura)
- Sistema receptor, procesador y de almacenamiento de la información
- Registrador o un monitor

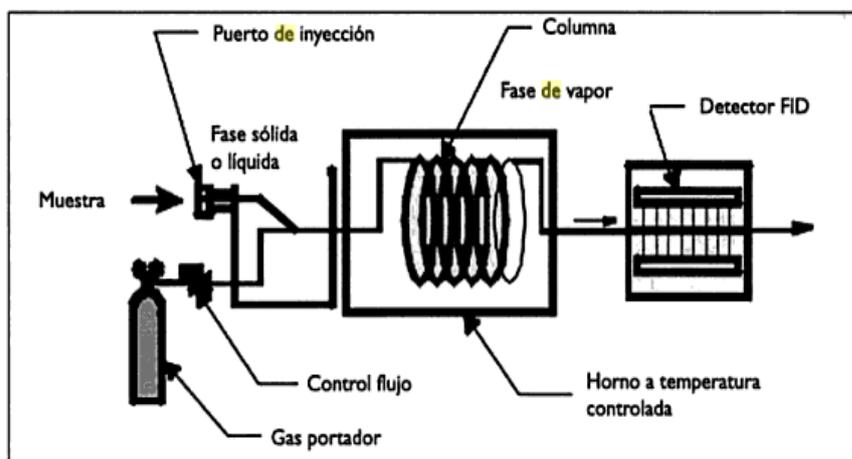


FIGURA 6 : PARTES DE UN CROMATÓGRAFO DE GASES

FUENTE: PRINCIPIO Y APLICACIONES DE LA CROMATOGRAFIA DE GASES, 2006

1.5. Espectrometría de masas

La espectrometría de masas es una de las técnicas analíticas más completas que existen. Se utiliza no solo en investigación, sino también en análisis de rutina de los procesos industriales y en control de calidad.

Esta técnica analítica proporciona información tanto cualitativa como cuantitativa de las moléculas analizadas previamente convertidas en iones. Las moléculas de interés, forman parte generalmente de una mezcla heterogénea que no requiere necesariamente una separación previa y se someten a una fuente de ionización donde van adquiriendo ya sea carga positiva o negativa. Los iones atraviesan el analizador de

masas hasta que alcanzan las distintas partes del detector. Luego de entrar en contacto con el detector, se emiten señales que se registran en un sistema informático y son representadas en un espectro de masas la cual nos muestra la abundancia relativa de las señales (17).

CAPÍTULO 2

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Diseño Experimental

Para determinar el rendimiento del aceite esencial de *Passiflora edulis* Flavicarpa se desarrolló un diseño experimental de un factor para cada una de las partes de la maracuyá: semilla, jugo y cáscara. Los datos obtenidos fueron analizados por triplicado en el programa estadístico MINITAB 15

2.1.1. Definición de las variables de respuesta

El experimento realizado tiene las siguientes variables:

- **Variable dependiente o de respuesta:**
 - Rendimiento de aceite esencial

- **Variable independiente o factores:**
 - Proporción de muestra (semilla)

- Proporción muestra/agua (jugo)
- Proporción muestra/agua (cáscara)

Hipótesis

Para desarrollar el diseño experimental se plantearon hipótesis para cada parte del fruto. Las hipótesis a probar se basaron en la obtención del rendimiento del aceite esencial que se detallan a continuación:

H₀1: La proporción cáscara/agua a usar en la extracción no influye en el rendimiento del aceite esencial.

H_i1: La proporción cáscara/agua a usar en la extracción influye en el rendimiento del aceite esencial.

H₀2: La proporción de jugo a usar en la extracción no influye en el rendimiento del aceite esencial.

H_i2: La proporción de jugo a usar en la extracción influye en el rendimiento del aceite esencial.

H₀3: La proporción semillas/agua a usar en la extracción no influye en el rendimiento del aceite esencial.

H_i3: La proporción semillas/agua a usar en la extracción influye en el rendimiento del aceite esencial.

2.2. Materiales, Reactivos y Equipos

Materiales

En el desarrollo de este experimento se utilizaron los siguientes materiales: vasos de precipitación de vidrio de 25 ml, 50 ml, 100 ml, 500 ml y 1000 ml, 4 balones de vidrio: 2 de 1000 ml y 2 de 500 ml, 4 pipetas graduadas de vidrio: 2 de 0,5 ml y 2 de 1 ml, probetas graduadas de vidrio de 50 ml, 100 ml, 500 ml y 1000 ml, 2 trampas de Clevenger de densidades menores a 1 NS 24/40, 1 condensador en espiral NS 24/40, embudo de decantación de 100 ml NS 24/40, vernier (0-150 mm), mortero con mazo de porcelana, cajas Petri, tubos de ensayo pequeños, mechero de alcohol, puntas de 100 y 200 μ l, pipetas de 10 a 200 μ l, aza de platino, sacabocado número 3, filtro para jeringa 0,2 μ m, jeringa de 1ml, tubos eppendorf, aza de dispersión y frascos ámbar de 1 ml.

Reactivos

Para la extracción del aceite esencial se utilizó, sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) al 99% por su propiedad desecante, agua destilada y éter di etílico ($\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$) como disolvente. Para el análisis microbiano se utilizó Tween 20 al 0,05% y Nutrient agar Difco. Ver APÉNDICE A.

Equipos

Los equipos utilizados para el desarrollo de este proyecto fueron los siguientes: balanza digital modelo ALT 220-4NM marca KERN y una balanza analítica modelo AB240-S marca METLER TOLEDO, plato calentador marca IKA LABORTECHNIK, refractómetro marca CIENTEC S.A, microondas marca General Electric, cromatógrafo de gases modelo 7890A acoplado a un espectrómetro de masas 5975C con triple detector de ejes marca AGILENT TECHNOLOGIES, baño María marca SWR SCIENTIFIC PRODUCT, densímetro de MARFALANT e incubadora marca SHELDON.

2.3. Metodología

Para obtener el aceite esencial de la semilla, jugo y cáscara de *Passiflora edulis* Flavicarpa, se utilizó una metodología adaptada a partir de los procedimientos descritos por Parada y col. (19).

Preparación de la muestra

Las muestras se recolectaron aleatoriamente en un distribuidor mayorista del cantón Quevedo en la provincia de los Ríos, ya que esta zona está dedicada a cultivar la variedad de maracuyá utilizada en

este experimento. Una vez realizada la recolección de los frutos, estos fueron llevados a los laboratorios del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE), los mismos que se encuentran ubicados en el Campus Gustavo Galindo de la Escuela Superior Politécnica Del Litoral (ESPOL), donde se realizó la medición de las características físicas del fruto (longitud, diámetro y color), luego de esto se procedió a pesar, lavar y cortar la fruta de manera manual, se midió los grados Brix del jugo y se calculó la humedad, como se describe en los siguientes pasos:

Medición de color

Se utilizó la escala de Munsell que está dada por 3 parámetros: A: Tono; B: Saturación y C: Valor. Se tomó el fruto y se realizó la comparación visual con distintas escalas de matices y tono de saturación.

Medición de tamaño

Se obtuvo el peso de cada fruta que ingreso al laboratorio. Se tomó N números de muestras para realizar la medición de la longitud y el diámetro mediante el uso de un Vernier. Ver APÉNDICE B

Peso del producto

Una vez realizada la medición del tamaño, se realizó la medición del peso utilizando una balanza.

Obtención de grados Brix

Los grados Brix se determinaron por medio de un refractómetro, donde se colocó una gota de la muestra en el prisma, se observó el resultado y se procedió a enjuagar el equipo con agua destilada. Ver APÉNDICE C.

Cálculo de Humedad

Para determinar la humedad de la muestra se empleó el método convencional para la deshidratación de una muestra con base húmeda, que se fundamenta en valorar el contenido de agua presente en el alimento. Se tomó 2 g de muestra triturada para luego ser transferida a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada a 105°C hasta masa constante. Luego la muestra fue desecada a 105°C durante 3 horas. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se pesó. Esto fue realizado por triplicado. El contenido de

agua de la muestra se calculó por diferencia de peso y se expresó en % de humedad (g de H₂O/100 g de muestra). Ver APÉNDICE D.

Obtención de las semillas

Se realizó el mismo procedimiento que en la obtención del jugo solo que una vez separado el jugo se utilizaron gazas, las mismas que todavía tenían mucílago, luego de esto se colocaron en un vaso de precipitación donde luego se sometieron a calor (proceso de escaldado) a una temperatura de 60°C para poder eliminar la mayor parte del bagazo y se secó la muestra bajo sombra durante 24 horas en papel empaque. Previo a la extracción del aceite esencial se trituraron las semillas para facilitar la obtención del mismo.

Obtención de jugo

Se utilizó el jugo con pepa y bagazo. Se extrajo de forma manual por medio de dos diferentes tamices, primero se hizo pasar a la muestra por uno de 2mm y luego por una gaza de 1 mm donde se aplicó un ligero prensado manual para facilitar la separación de las pepas con el bagazo, donde se obtuvo el jugo y se separaron las semillas.

Obtención de la cáscara

Se realizó el troceado de la cáscara de forma manual a una medida aproximadamente de 1x1 cm para de esta manera optimizar la extracción del aceite esencial. (Ver FIGURA 7).



FIGURA 7: OBTENCIÓN DE SEMILLA, JUGO Y CÁSCARA DE *PASSIFLORA EDULIS FLAVICARPA*

1: SEPARACIÓN DE JUGO Y SEMILLAS, 2: SEPARACIÓN DE LAS SEMILLAS POR MEDIO DE CEDAZO, 3: PREPARACIÓN DE JUGO PARA PROCESO DE HIDRODESTILACIÓN, 4: SEPARACIÓN DEL BAGAZO DE LA SEMILLA.

ELABORADO POR: ARNOLD ORTEGA CALLE

2.3.1. Balance de Masa

En la TABLA 5 se detalla las entradas y salidas de las diferentes masas que intervinieron en el proceso.

**TABLA 5: ABREVIACIONES DE ENTRADAS Y SALIDAS PARA EL
BALANCE DE MASA**

| M.E. = M.S. | | |
|---|---|--|
| DATOS | ENTRADAS | SALIDAS |
| M = Masa | LA = Líquido Aceitoso ED = Éter di etílico SA = Sulfato de Sodio anhidro | AE = Aceite Esencial SED = Sobrantes de Éter di etílico SSA = Sobrantes de Sulfato de Sodio anhidro |
| <i>Entradas (MLA + MED + MSA) = Salidas (MSED + MSSA + MAE)</i> | | |

BALANCE DE MASA DE EXTRACCIÓN DE SEMILLAS DE MARACUYÁ

En la FIGURA 8 se detalla el balance de masa para la obtención del aceite esencial de semillas de *Passiflora edulis* Flavicarpa

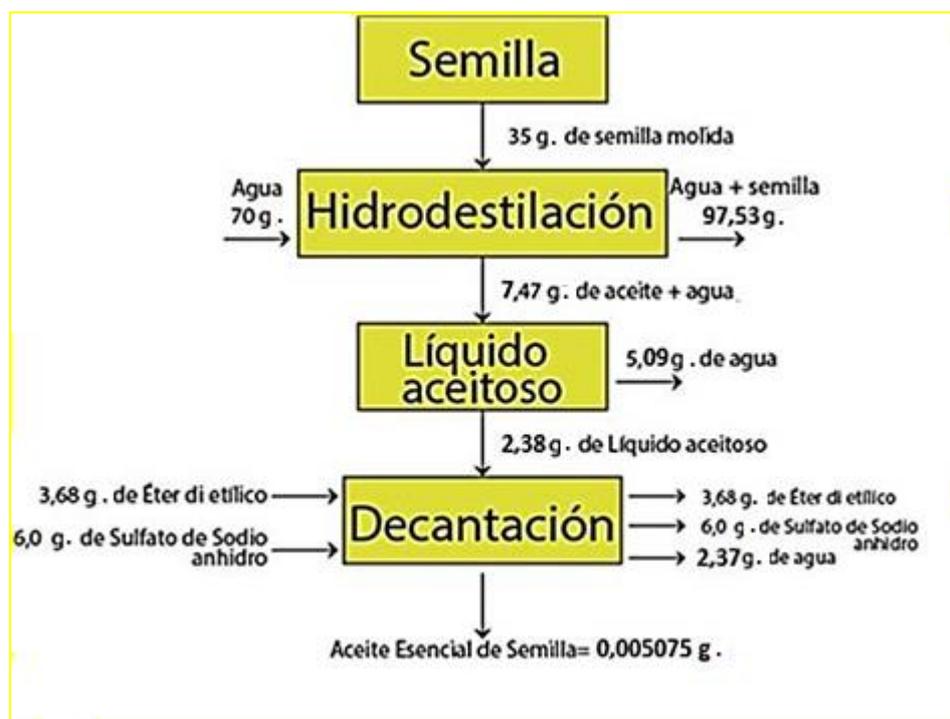


FIGURA 8: BALANCE DE MASA DE SEMILLA DE MARACUYÁ

Entradas = Salidas

$$(MLA + MED + MSA) = (MSED + MSSA + MAE)$$

$$2,38 + 3,68 + 6 = 3,68 + 6 + 2,37 + 0,005075$$

$$12,06 \text{ g} = 12,06 \text{ g}$$

Se utilizó 35 g de semilla molida, se obtuvo 7,47 g de líquido aceitoso en la hidrodestilación con una pérdida de 97,53 g que corresponden a la mezcla de semilla y agua destilada después del proceso de extracción; luego se realizó una segunda separación donde se obtuvo 2,38 g de líquido aceitoso para finalmente realizar la decantación donde se obtuvo 0,005075 g de aceite esencial de semilla de maracuyá.

BALANCE DE MASA DE EXTRACCIÓN DE JUGO DE MARACUYÁ

Se utilizó 525g de jugo, se obtuvo 9,63 g de líquido aceitoso en la hidrodestilación con una pérdida de 515,37 g que corresponden al jugo luego del proceso de extracción; se realizó una segunda separación donde se obtuvo 3,80 g de líquido aceitoso para finalmente realizar la decantación donde se obtuvo 0,1562 g de aceite esencial de jugo de maracuyá.

En la FIGURA 9 se detalla el balance de masa para la obtención de aceite esencial de jugo de *Passiflora edulis* Flavicarpa.

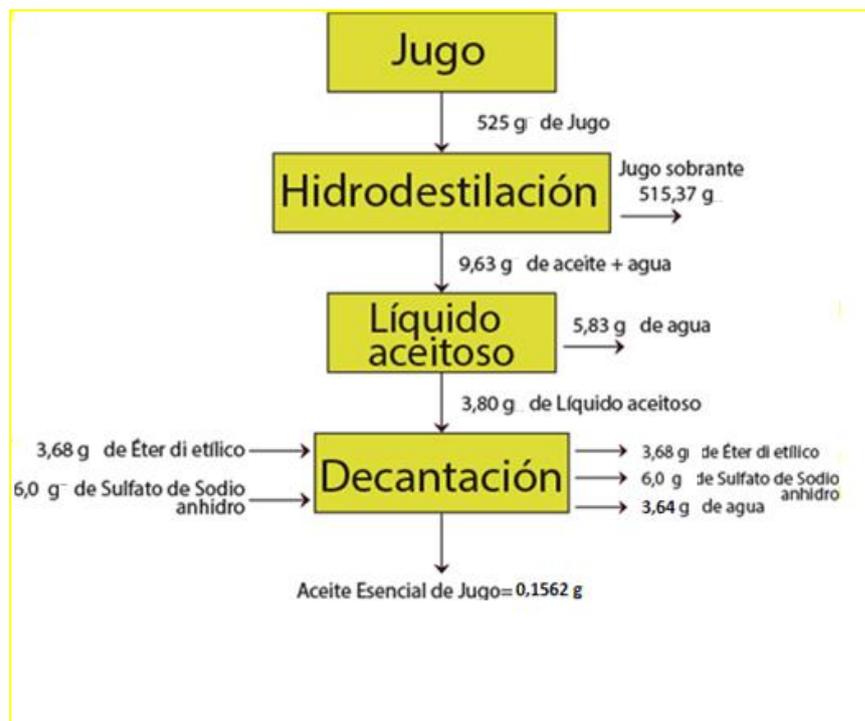


FIGURA 9: BALANCE DE MASA DE JUGO DE MARACUYÁ

Entradas = Salidas

Entradas (MLA + MED + MSA) = Salidas (MSED + MSSA+ MAE)

$$3,80 + 3,68 + 6 = 3,68 + 6 + 3,64 + 0,1562$$

$$13,48 \text{ g} = 13,48 \text{ g}$$

BALANCE DE MASA DE EXTRACCIÓN DE CÁSCARA DE MARACUYÁ

En la FIGURA 10 se detalla el balance para la obtención de aceite esencial de cáscara de *Passiflora edulis* Flavicarpa

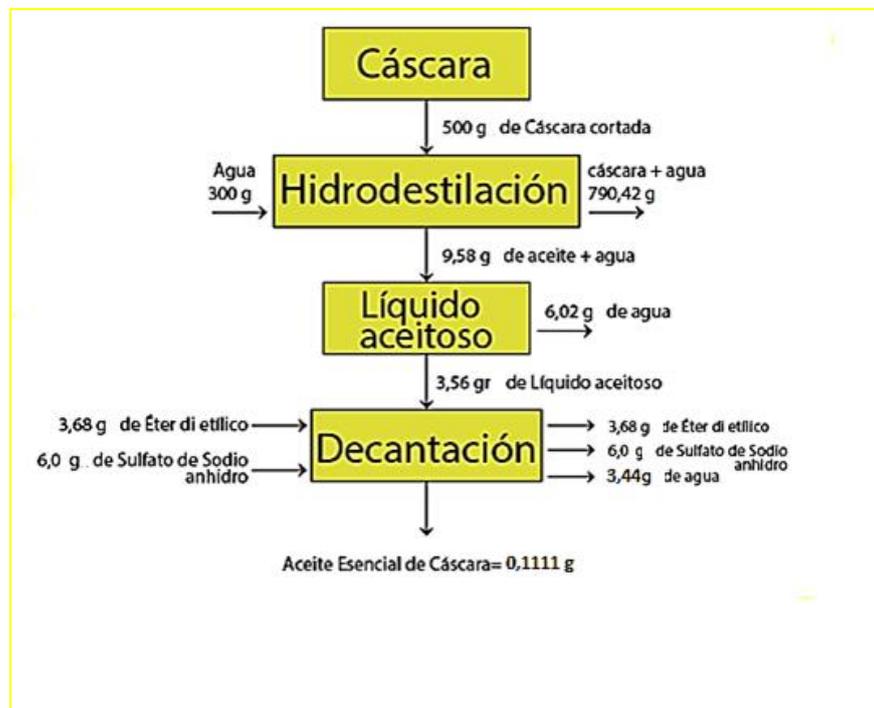


FIGURA 10: BALANCE DE MASA DE CÁSCARA DE MARACUYÁ

Entradas=Salidas

Entradas (MLA + MED + MSA) = Salidas (MSED + MSSA + MAE)

$$3,56 + 3,68 + 6 = 3,68 + 6 + 3,44 + 0,1111$$

$$13,24 \text{ gr} = 13,24 \text{ gr}$$

Se utilizó 500 g de cascara, se obtuvo 9,58 g de líquido aceitoso en la hidrodestilación con una pérdida de 790,42 g que corresponden a la mezcla de cáscara y agua destilada luego del proceso de extracción; se realizó una segunda separación donde se obtuvo 3,56 g de líquido aceitoso, se eliminó 6,02 g de agua para finalmente realizar la decantación donde se obtuvo 0.1111 g de aceite esencial de cáscara de maracuyá.

DIAGRAMA DE FLUJO

En la FIGURA 11 se presenta el diagrama de flujo para la obtención de aceite esencial de maracuyá una vez extraída cada parte de la fruta.

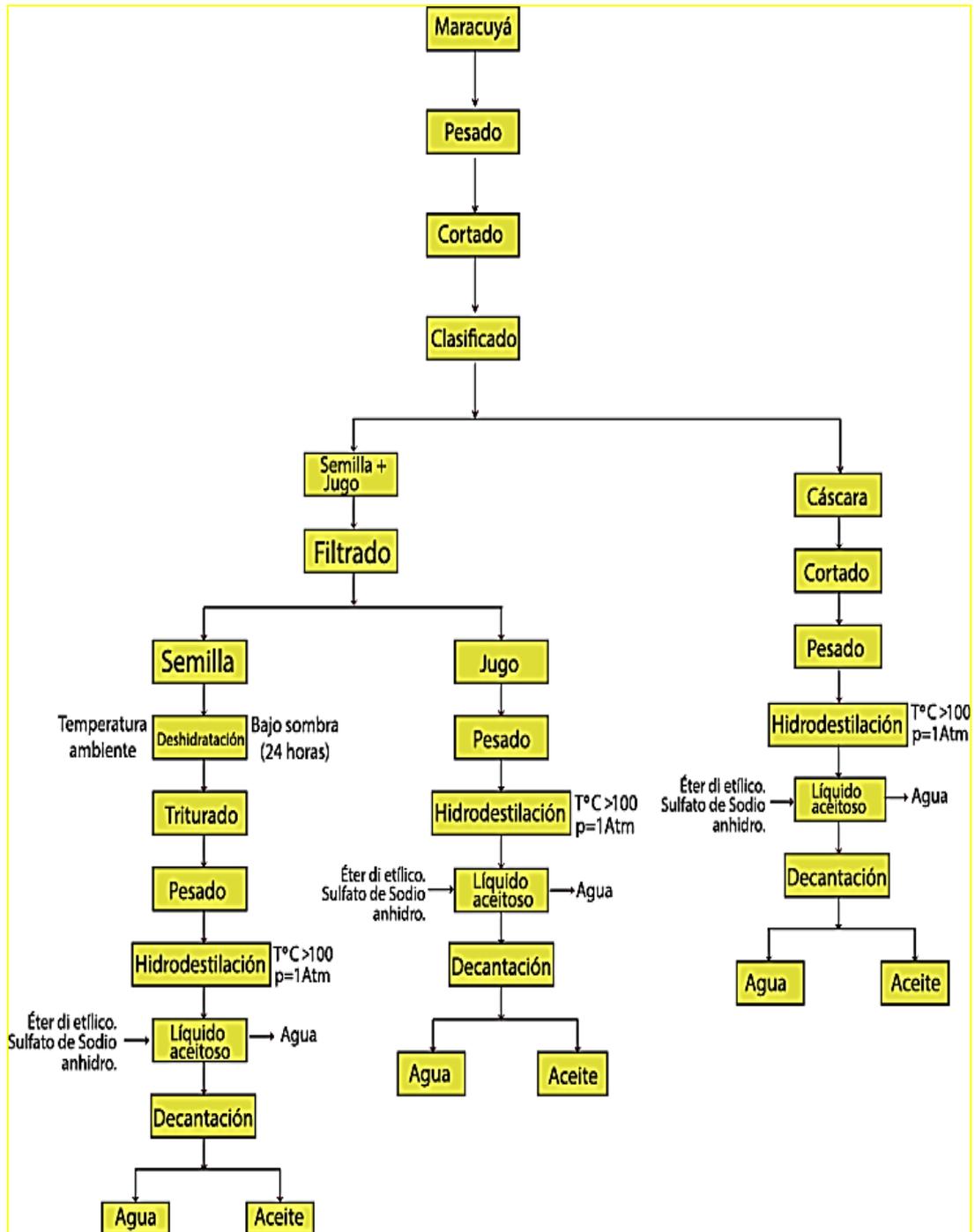


FIGURA 11: DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA OBTENCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE MARACUYÁ

ELABORADO POR: ARNOLD ORTEGA CALLE

2.3.2. Extracción de aceites esenciales de semilla, cáscara y jugo de *Passiflora edulis* Flavicarpa

Con el fin de realizar la extracción del aceite esencial de semilla, jugo y cáscara de *Passiflora edulis* Flavicarpa se utilizó cantidades de muestras definidas en el diseño experimental planteado.

Se utilizó el sistema de hidrodestilación con trampa Clevenger y se adaptó un microondas como fuente de calor. Ver APÉNDICE E. Se realizó 4 ciclos de 10 minutos con intervalos de descanso de 5 minutos entre cada ciclo. Este procedimiento fue realizado por triplicado para la determinación del rendimiento de aceite esencial.

El aceite esencial extraído se retiró del sistema, se disolvió en 10 ml de éter di etílico, se realizó la separación de fases en una ampolla de decantación, se colocó en un vaso de precipitación de 25 ml, se agregó 6 g de sulfato de sodio anhidro para eliminación del agua sobrante, el aceite separado se recolectó en un vial color ámbar, se rotuló y se almacenó a 4°C previo al análisis cromatográfico.

2.3.3. Caracterización química mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.

Las muestras extraídas se identificaron por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) en un equipo marca Agilent Technologies. Se utilizó una columna capilar HP-5MS (30 m x 0,25 mm) con fenil dimetilpolisiloxano como fase estacionaria (0,25 micras de espesor de película) y helio como gas de arrastre (1ml/min). Las condiciones cromatográficas utilizadas fueron: temperatura de inyección (250°C) modo splitless, temperatura del detector (280°C), la temperatura del horno se mantuvo en 50°C por 0,5 minutos, después se incrementó hasta 250°C a 4°C/min. Los compuestos químicos fueron identificados por comparación de los espectros de masas de las muestras con los espectros de masas de la librería digital Wiley, 9na. edición.

2.3.4. Actividad antibacteriana

Se utilizó una cepa bacteriana de *E. coli* suministrada por el CIBE y como sustancia antibacteriana aceite esencial de maracuyá.

Los aceites esenciales fueron disueltos en Tween 20 con una concentración de 0,05%, se prepararon diluciones al 5, 10 y 20% que se esterilizaron en filtros de nylon (0,2 μm) previo a la inoculación en 10 cajas Petri con agar Nutrient Difco.

La preparación de los inóculos se realizó colocando el patógeno en una solución salina al 0,8% y se lo ajustó a una densidad de 0,5 en la escala de McFarland (1×10^6 células/ml).

En las cajas Petri se inoculó 50 μl de la suspensión, se distribuyó uniformemente usando asas de dispersión; luego con ayuda de un sacabocado de 0,3 mm de radio se realizaron cortes circulares en el agár, se colocó las diferentes concentraciones de aceite esencial. Finalmente, se colocó 50 μl de Tween 20 en las cajas de control y 50 μl de la solución en la caja de siembra previamente separada en 4 secciones diferentes para evaluar las concentraciones planteadas.

Las cajas Petri fueron incubadas a 37°C durante 24 horas y las lecturas se realizaron a las 24 y 48 horas de incubación. Estas pruebas se efectuaron por triplicado para comprobar la repetibilidad del método. Ver APÉNDICE F.

CAPÍTULO 3

3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1. Evaluación del diseño experimental

Se procedió a evaluar las variables independientes de cada una de las partes de la fruta: semilla, jugo y cáscara, acorde al planteamiento del problema con el fin de obtener el mejor rendimiento de aceite esencial a escala de laboratorio.

En la TABLA 6 se muestran los valores experimentales del rendimiento que se obtuvo como resultado de la extracción del aceite esencial necesario para la evaluación del diseño experimental propuesto.

La prueba de significancia del mejor rendimiento de aceite esencial, fue evaluada mediante T de 2 muestras asumiendo varianzas iguales. Previamente se comprobó la normalidad de los datos y la

evaluación realizada aceptó las hipótesis planteadas. El resumen de los resultados obtenidos se presenta en el APÉNDICE G

TABLA 6: PORCENTAJE DE RENDIMIENTO PARA LA EVALUACIÓN EXPERIMENTAL

| | Semilla | | Jugo | | Cáscara | |
|--------------|----------------------------------|-----------------|-------------------------|-----------------|----------------------------------|-----------------|
| | Proporción muestra (g)/agua (ml) | Rendimiento (%) | Proporción muestra (ml) | Rendimiento (%) | Proporción muestra (g)/agua (ml) | Rendimiento (%) |
| Nivel mínimo | 25/70 | 0,000254 | 400 | 0,00082 | 500/300 | 0,01866 |
| | 25/70 | 0,000203 | 400 | 0,00009 | 500/300 | 0,03404 |
| | 25/70 | 0,000234 | 400 | 0,00069 | 500/300 | 0,01396 |
| Nivel máximo | 35/70 | 0,011240 | 525 | 0,02938 | 600/400 | 0,00008 |
| | 35/70 | 0,015400 | 525 | 0,03440 | 600/400 | 0,00015 |
| | 35/70 | 0,016850 | 525 | 0,02554 | 600/400 | 0,00007 |

ELABORADO POR: ARNOLD ORTEGA CALLE

A continuación se presenta la valoración de las hipótesis planteadas en el inciso 2.1:

SEMILLA:

| PRUEBA DE NORMALIDAD PARA RENDIMIENTO DE SEMILLA | | | | |
|---|---|-----------|-----------|--------------------------|
| Prueba T e IC de dos muestras: Rendimiento. Proporción muestra/agua | | | | |
| T de dos muestras para Rendimiento | | | | |
| Proporción muestra/agua | N | Media | Desv.Est. | Media del Error estándar |
| 25/70 | 3 | 0,0002303 | 0,0000257 | 0,000015 |
| 35/70 | 3 | 0,01450 | 0,00291 | 0,0017 |
| Diferencia = μ (25/70) - μ (35/70) | | | | |
| Estimado de la diferencia: -0,01427 | | | | |
| IC de 95% para la diferencia: (-0,01893, -0,00960) | | | | |
| Prueba T de diferencia = 0 (vs. no =): Valor T = -8,49 Valor P = 0,001 GL = 4 | | | | |
| Ambos utilizan Desv.Est. agrupada = 0,0021 | | | | |

FIGURA 12: ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DEL RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL PARA SEMILLA

FUENTE: MINITAB 15

El valor P de 0,001 de la FIGURA 12 indica que existe suficiente evidencia estadística para rechazar H_0 , debido a esto la proporción muestra/agua a utilizar influye en el rendimiento de aceite esencial de semilla.

JUGO:

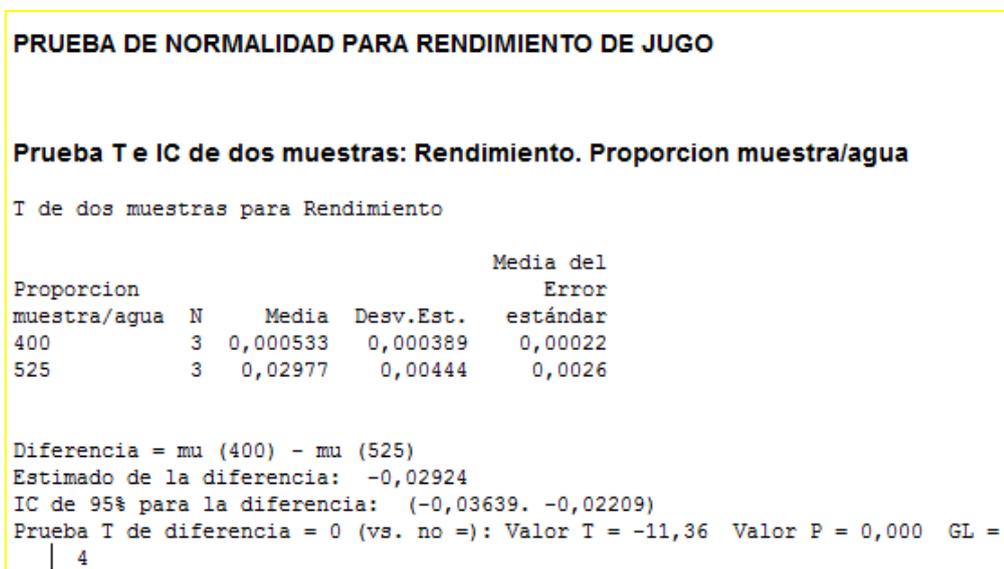


FIGURA 13: ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DEL RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL PARA JUGO

FUENTE: MINITAB 15

El valor P de 0,000 de la FIGURA13 indica que existe suficiente evidencia estadística para rechazar H_0 , debido a esto la cantidad de muestra del jugo a utilizar influye en el rendimiento de aceite esencial.

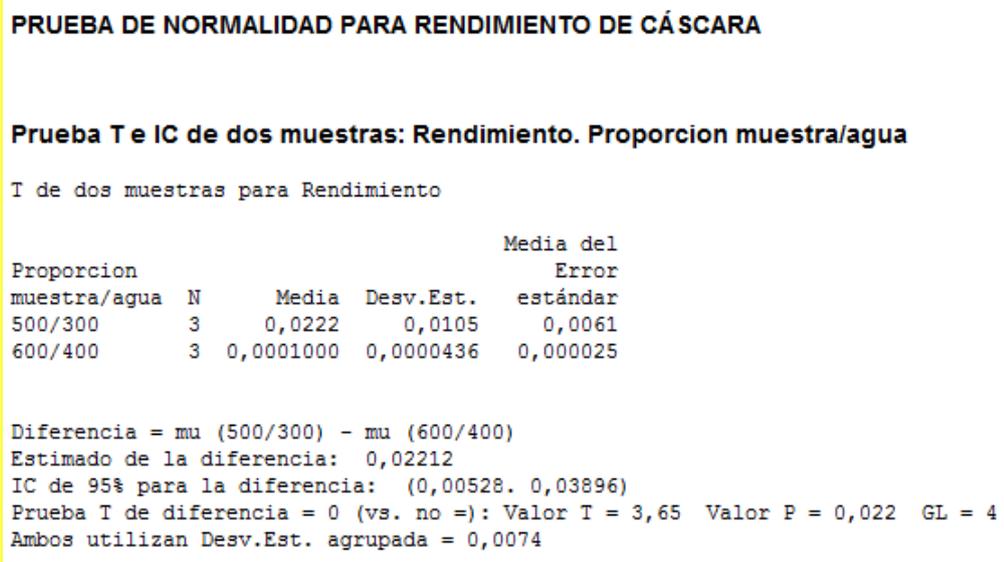
CÁSCARA:

FIGURA 14: ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DEL RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL PARA LA PROPORCIÓN CÁSCARA/AGUA

FUENTE: MINITAB 15

El valor P de 0,022 de la FIGURA 14 indica que existe suficiente evidencia estadística para rechazar H_0 , debido a esto la relación muestra/agua a utilizar influye en el rendimiento de aceite esencial de cáscara.

Por lo tanto, las pruebas de significancia para cada parte de la fruta indican que el rendimiento del aceite esencial que se obtuvo depende de las variables independientes. De acuerdo a esto se utilizó la relación muestra/agua (g/ml) de 500/300 para cáscara y 35/70 para semilla. En la experimentación con el jugo no fue necesario combinarla

con agua destilada, debido a que esta es una sustancia líquida, por este motivo se utilizó 525 g de muestra.

3.2. Rendimiento experimental

PARÁMETROS DE RECOLECCIÓN

En la TABLA 7 se muestran algunos parámetros morfológicos y fisicoquímicos de recolección que se obtuvieron para la extracción de los aceites esenciales.

TABLA 7: PARÁMETROS DE RECOLECCIÓN DE *PASSIFLORA EDULIS FLAVICARPA*

| Parámetros de recolección <i>Passiflora edulis</i> Flavicarpa | |
|--|---------------|
| Diámetro (cm) | 6,516±0.479 |
| Grados Brix | 13,864±1,535 |
| Humedad (%) | 74,62%±0,1185 |
| Longitud (cm) | 7,544±0,706 |
| Peso (g) | 140,69±35,890 |
| Valores medio (n= 50)± desviación estándar | |

ELABORADO POR: ARNOLD ORTEGA CALLE

En la TABLA 7 se detallan los valores promedio de peso y diámetro de las muestras analizadas, estos valores indican que el tamaño de la fruta evaluada era mediana, coinciden con las longitudes descritas por Borja, 2008 (4) y con los de la NORMA NTE INEN (1971:2012). VER APÉNDICES I y J. Los valores de peso y diámetro medidos a las 50 muestras evaluadas se encuentran en el APÉNDICE H.

Los datos obtenidos de coloración de la fruta acorde a la escala de Munsell se presentan en el APÉNDICE K, de la misma manera por codificación de color la fruta se encuentra en la escala 5 que corresponde al color amarillo, VER APÉNDICE L. Estudios realizados por Borja, 2008 demuestran que la coloración de una fruta indican la madurez de la misma por lo tanto podemos decir que la fruta evaluada se encuentra en su plenitud de madurez.

Los resultados que se obtuvieron para la medición de grados Brix para jugo (11-16 Brix) que se muestran en el APÉNDICE M se ajustan a los parámetros de exportación reportados por Pendola, 1997 (1) y a los reportados por Borja, 2008 (4) donde se determina que con esos valores de Brix la fruta es idónea para utilizarse en procesos industriales. Los cálculos de humedad que se reportan en la TABLA 7 se presentan en el APÉNDICE N.

PORCENTAJE DE RENDIMIENTO

Los porcentajes de rendimiento de los aceites esenciales de semilla, jugo y cáscara de maracuyá se presentan en la TABLA 8. Estos resultados no han sido referenciados y según el análisis comparativo no existe diferencia significativa entre las muestras. Sin embargo, el rendimiento experimental de la semilla (0,01450%) resultó ser el más

alto en comparación con el jugo (0,02977%) y la cáscara (0,02222%). Las semillas poseen un rendimiento superior al de las otras partes de la fruta ya que en ella se encuentra una gran cantidad de compuestos grasos, los cuales son arrastrados junto a los aceites esenciales durante el proceso de extracción. Según Cassia & Neuza, 2012 (20) las semillas de *Passiflora edulis* Flavicarpa poseen un 30,39% de compuestos lipídicos

Los resultados que se obtuvieron de cada una de las muestras fueron sometidos a análisis de varianza y Test de Tukey para realizar la comparación de medias entre muestras con 5% de significancia, utilizando el programa estadístico INFOSTAT, versión 2008 Ver APÉNDICE O.

TABLA 8: PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE LOS ACEITES ESENCIALES DE SEMILLA, JUGO Y CÁSCARA DE *PASSIFLORA EDULIS* FLAVICARPA

| MUESTRA | % DE RENDIMIENTO |
|---|-------------------------|
| SEMILLA | 0,01450 ± 0,00291 A |
| JUGO | 0,02977 ± 0,00444 A |
| CÁSCARA | 0,02222 ± 0,01050 A |
| Valores medios (n=3) ± desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre muestras según Test de Tukey (p>0,05) | |

ELABORADO POR: ARNOLD ORTEGA CALLE

3.3. Composición química del aceite esencial de *Passiflora edulis* Flavicarpa

ACEITE ESENCIAL DE SEMILLA

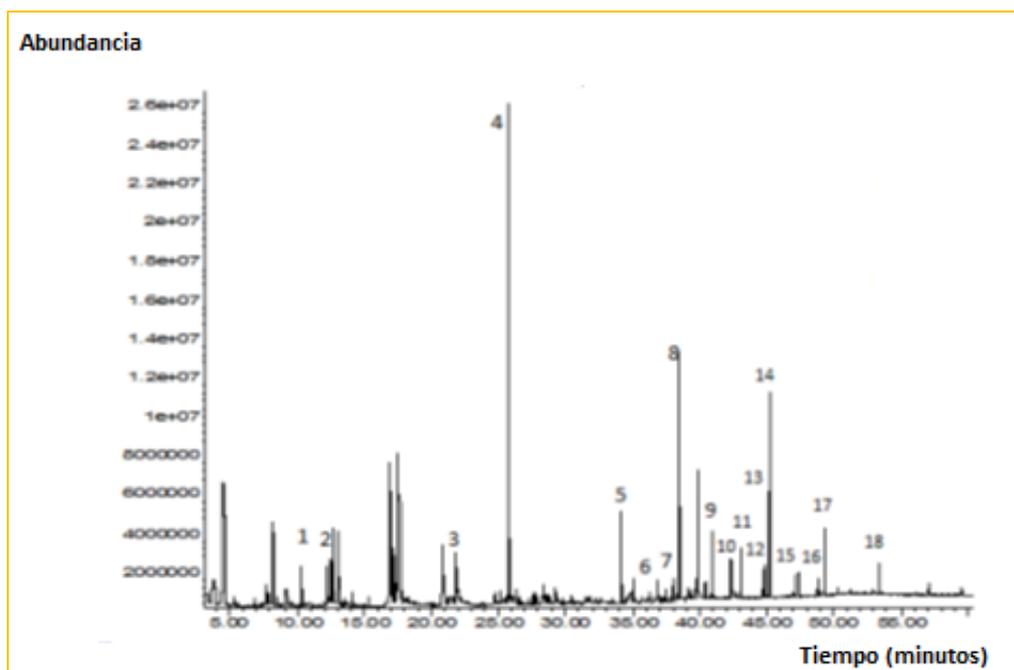


FIGURA 15: CROMATOGRAMA GASEOSO ANALÍTICO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS SEMILLAS DE MARACUYÁ

La FIGURA 15 muestra el perfil cromatográfico del aceite esencial de semilla de maracuyá. El cromatograma registró alrededor de 41 compuestos, de los cuales pudieron asignárseles estructuras a 18 y se muestran en la TABLA 9.

De los componentes identificados en el aceite esencial de las semillas de maracuyá puede destacarse la presencia de ionol como componente mayoritario (12,10%), el linalol (0,89%) y el α -fenil-

**TABLA 9: COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE SEMILLA DE
PASSIFLORA EDULIS FLAVICARPA**

| PICO | TIEMPO DE RETENCIÓN | COMPUESTO | % DE ÁREA |
|------|---------------------|---|-----------|
| 1 | 10,295 | α -fenil-acetaldehído | 1,69 |
| 2 | 12,197 | Linalol | 0,89 |
| 3 | 21,817 | Caproato de hexilo (hexanoato de hexilo) | 1,16 |
| 4 | 25,780 | Ionol | 12,10 |
| 5 | 34,133 | Palmitaldehido (Hexadecanal) | 2,18 |
| 6 | 36,875 | Palmitato de metilo (Hexadecanoato de metilo) | 0,51 |
| 7 | 38,008 | Palmitolenato de etilo (Hexadecenoato de etilo) | 0,51 |
| 8 | 38,523 | Palmitato de etilo (Hexadecanoato de etilo) | 5,79 |
| 9 | 40,941 | Heneicosano | 1,66 |
| 10 | 42,340 | Linoleato de etilo (9,12-octadecadienoato de etilo) | 0,98 |
| 11 | 42,474 | Oleato de etilo (Octadecenoato de etilo) | 0,98 |
| 12 | 43,148 | Nonadecano | 1,29 |
| 13 | 44,860 | 9-nonadeceno | 1,36 |
| 14 | 45,279 | Tricosano | 5,13 |
| 15 | 47,315 | Eicosano | 0,59 |
| 16 | 48,925 | 9-tricoseno | 0,41 |
| 17 | 49,275 | Pentacosano | 1,74 |
| 18 | 53,404 | Heptadecano | 1,08 |

ELABORADO POR: ARNOLD ORTEGA CALLE

acetaldehído (1,69%), como únicas estructuras características de los aceites esenciales. El resto de los compuestos presentes corresponden a ácidos grasos e hidrocarburos, que son componentes característicos de los lípidos que se encuentran por lo general en las semillas de los frutos.

El ionol es un marcador del género *Passiflora* que caracteriza el aroma de los frutos; el linalol, un monoterpeno que se encuentra con un

porcentaje de área relativamente bajo (0,89%), es utilizado como fragancia y sabor en la industria de cosméticos y bebidas(21)

Según Burdock, 1997 (22) el éster etílico del ácido hexadecanoico es utilizado como agente saborizante. El tetradecanal se utiliza como agente saborizante en la industria de alimentos (22) y el fenil acetaldéido es utilizado ampliamente en la industria de saborizantes y fragancias (23).

ACEITE ESENCIAL DE JUGO

El cromatograma gaseoso analítico del aceite esencial del jugo de maracuyá se presenta en la FIGURA 16.

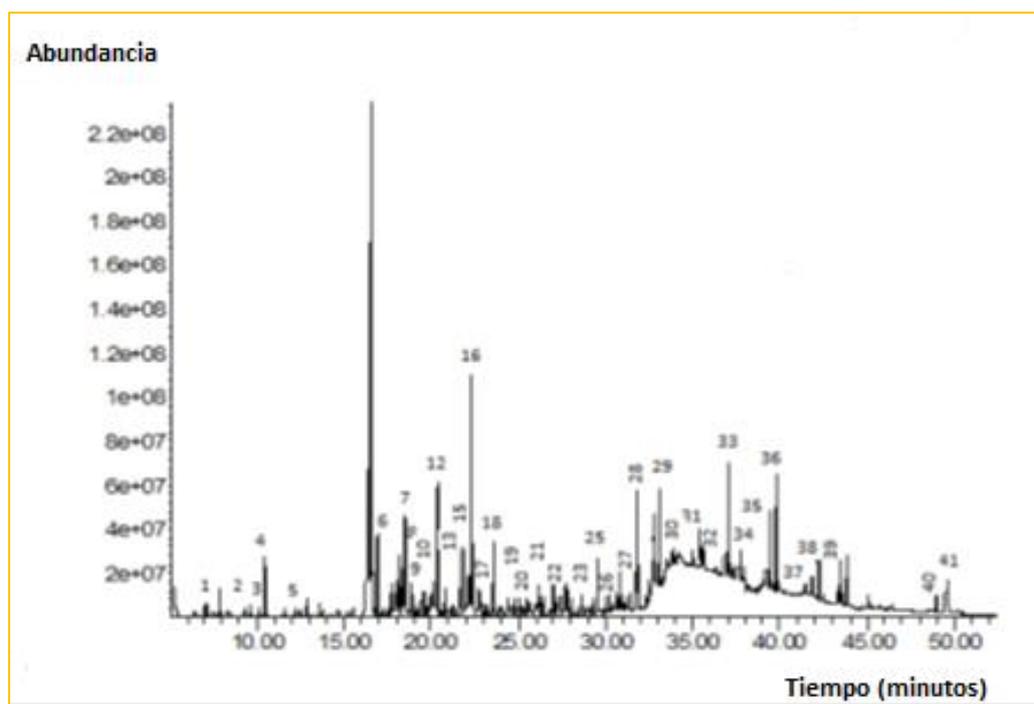


FIGURA 16: CROMATOGRAMA GASEOSO ANALÍTICO DEL ACEITE ESENCIAL DEL JUGO DE MARACUYÁ

El equipo registró un total de 112 compuestos de los cuales a 41 le fueron asignados por comparación de sus espectros con los de la biblioteca del equipo.

Los compuestos a los que se les asignaron estructuras, se presentan en la TABLA 10. Pudieron identificarse un total de 41 compuestos de ellos 11 terpenoides (4 monoterpenos y 7 sesquiterpenos casi todos oxigenados con excepción del farneseno), 15 compuestos alifáticos de cadena abierta (3 alcoholes, 2 cetonas y 10 hidrocarburos), 11 ésteres y 4 ácidos grasos.

Es de importancia mencionar que el Ionol se identificó en las tres partes del fruto, pero en el jugo se encontraron otros tres derivados de este compuesto: Dihidro- β -ionona (1,61 %), Dihidro- β -ionol (1,11 %) y β -ionona (0,52 %). Estos resultados concuerdan con los reportados por Winterhalt, 1990 (24) y Herderich & Winterhalter, 1991(25); quienes señalan que los ionoles son componentes importantes en los aromas de los frutos siendo además precursores del aroma de *Passiflora edulis* y del género *Passiflora* en general.

Es de destacar la presencia del ácido palmítico y sus diferentes ésteres dentro de los componentes del aceite esencial, así como de los compuestos azufrados, los cuales están considerados como componentes de los aromas de muchos frutos.

**TABLA 10: COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE JUGO DE
PASSIFLORA EDULIS FLAVICARPA**

| PICO | TIEMPO DE RETENCIÓN | COMPUESTO | % DE ÁREA |
|------|---------------------|---|-----------|
| 1 | 7,829 | Linalol | 0,44 |
| 2 | 9,629 | Ocimenol | 0,25 |
| 3 | 10,113 | 4-Terpineol | 0,16 |
| 4 | 10,507 | α -terpineol | 1,28 |
| 5 | 12,906 | 1-Decanol | 0,36 |
| 6 | 17,773 | Butanoato de 3-Mercaptohexilo | 1,01 |
| 7 | 18,116 | Dihidro β - ionona | 1,61 |
| 8 | 18,332 | Dihidro β - ionol | 1,11 |
| 9 | 18,918 | Cinamato de etilo (ácido 2-propenoico 3 fenil etil éster) | 0,41 |
| 10 | 19,554 | β - ionona | 0,52 |
| 11 | 20,184 | α -farneseno | 0,73 |
| 12 | 20,355 | Ionol | 2,80 |
| 13 | 20,737 | 2,6-dimetil-2,6-octadieno | 0,21 |
| 14 | 21,240 | Hexanoato de bencilo | 0,20 |
| 15 | 21,812 | Nerolidol | 1,42 |
| 16 | 22,334 | Caprilato de hexilo (Octanoato de hexilo) | 5,95 |
| 17 | 22,659 | Laurato de etilo (Dodecanoato de etilo) | 0,49 |
| 18 | 23,543 | Hexanoato de 3-Mercaptohexilo | 1,23 |
| 19 | 25,541 | 2-Pentadecanona | 0,39 |
| 20 | 25,693 | 2-eicosanol | 0,20 |
| 21 | 26,202 | Farnesol | 0,75 |
| 22 | 27,710 | Decanoato de hexilo | 0,89 |
| 23 | 28,073 | Miristato de etilo (Tetradecanoato de etilo) | 0,32 |
| 24 | 30,789 | 2-Heptadecanona | 0,82 |
| 25 | 30,904 | 2-Heptadecanol | 0,39 |
| 26 | 31,381 | Palmitato de metilo (Hexadecanoato de metilo) | 0,30 |
| 27 | 32,520 | Palmitoleniato de etilo (9-Hexadecenoato de etilo) | 0,38 |
| 28 | 32,800 | Palmitato de vinilo (Hexadecanoato de etenilo) | 2,80 |
| 29 | 33,041 | Palmitato de etilo (Hexadecanoato de etilo) | 2,01 |
| 30 | 33,156 | Ácido palmítico (ácido Hexadecanoico) | 0,13 |
| 31 | 35,459 | Heneicosano | 0,95 |
| 32 | 36,865 | Linoleato de etilo (9,12-Octadecadienoato de etilo) | 0,43 |
| 33 | 37,024 | Linoleniato de etilo (9,12,15-Octadecatrienoato de etilo) | 2,13 |
| 34 | 37,673 | Docosano | 0,52 |
| 35 | 39,384 | 1-heneicoseno | 1,43 |

| | | | |
|----|--------|--------------|------|
| 36 | 39,804 | Tricosano | 2,19 |
| 37 | 41,547 | 1-Docoseno | 0,19 |
| 38 | 43,488 | 9-tricoseno | 0,88 |
| 39 | 43,888 | Eicosano | 1,16 |
| 40 | 48,959 | 1-nonadeceno | 0,51 |
| 41 | 49,557 | Heptacosano | 1,07 |

ELABORADO POR: ARNOLD ORTEGA CALLE

ACEITE ESENCIAL DE CÁSCARA

Para el aceite esencial de la cáscara, el equipo registró un cromatograma gaseoso analítico, que presentó alrededor de 40 picos cromatográficos (ver FIGURA 17), de los cuales se pudo asignar estructuras a 16 de ellos.

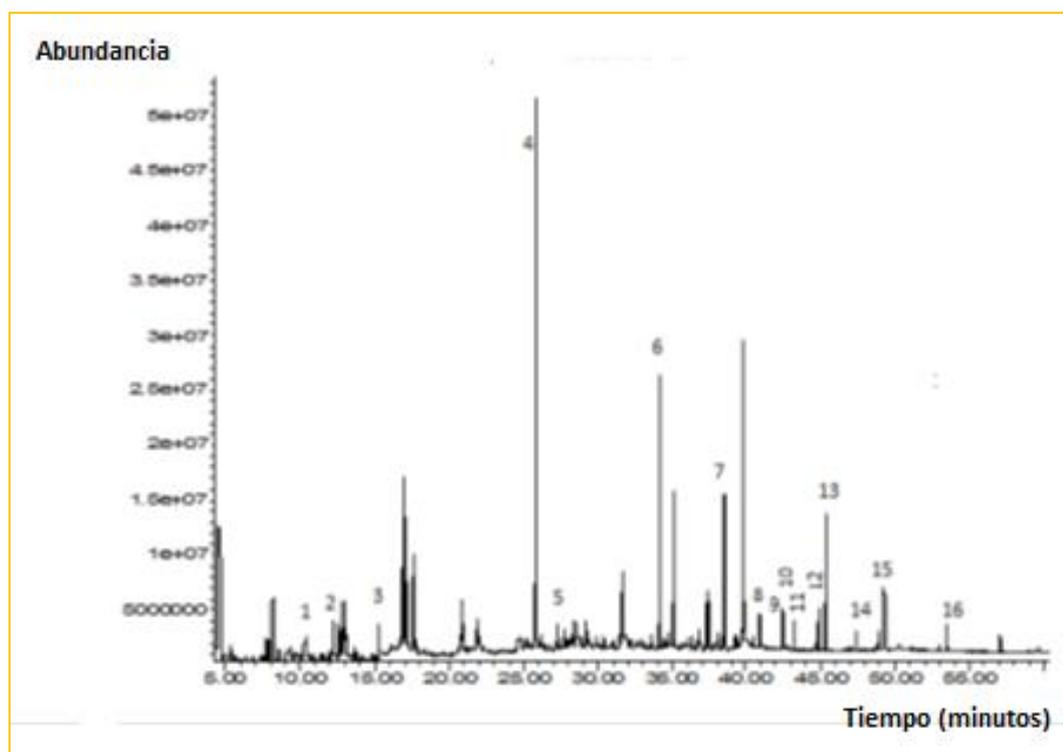


FIGURA 17: CROMATOGRAMA GASEOSO ANALÍTICO DEL ACEITE ESENCIAL DE LA CÁSCARA DE MARACUYÁ

En la TABLA 11 se exponen los principales compuestos identificados en el aceite esencial de cáscara de maracuyá. Se determinaron 19 compuestos químicos de los cuales se encontró 2 monoterpenos, 2 sesquiterpenos, 2 aldehídos, 7 alcanos, 3 ácido graso esterificado y 3 ácidos grasos libres.

TABLA 11: COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE CÁSCARA DE *PASSIFLORA EDULIS FLAVICARPA*

| PICO | TIEMPO DE RETENCIÓN | COMPUESTO | % DE ÁREA |
|------|---------------------|--|-----------|
| 1 | 10,296 | Fenil-acetaldehído | 0,83 |
| 2 | 12,198 | Linalol | 1,06 |
| 3 | 15,335 | α -terpineol | 0,65 |
| 4 | 25,794 | Ionol | 13,15 |
| 5 | 27,251 | δ -nerolidol | 0,88 |
| 6 | 34,134 | Hexadecanal | 6,24 |
| 9 | 38,524 | Palmitato de etilo (Hexadecanoato de etilo) | 3,56 |
| 11 | 40,942 | Heneicosano | 0,83 |
| 12 | 42,341 | Ácido linoleico (Ácido 9,12- octadecadienoico) | 1,00 |
| 13 | 42,475 | Oleato de etilo (9-octadecenoato de etilo) | 0,94 |
| 14 | 43,149 | Docosano | 0,78 |
| 15 | 44,867 | 9-tricoseno | 0,90 |
| 16 | 45,281 | Heptacosano | 3,29 |
| 17 | 47,310 | Eicosano | 0,45 |
| 18 | 49,276 | Pentacosano | 1,46 |
| 19 | 53,405 | Octadecano | 0,89 |

ELABORADO POR: ARNOLD ORTEGA CALLE

En la cáscara se pudo encontrar el ionol (13,15%) como componente mayoritario, lo cual confirma la presencia de este marcador en el género y el cual provee del aroma característico a los aceites

esenciales, también se encontró nerolidol (0,88%) con menor porcentaje de área pero así mismo este sesquiterpeno es importante en la industria de la perfumería ya que presenta un agradable olor a lirio (26), además es usado por sus propiedades antimicrobianas según estudios reportados por Akhila, 2010 (27).

Otro monoterpeno utilizado en la industria como saborizante de alimentos e identificado en esta muestra es el linalol (1,06%) (28), de igual forma el alfa terpinol (0,65%) con propiedades antiinflamatorias, actividad antibacteriana y antifúngica (29).

La presencia de un grupo de alcanos y dos ácidos grasos en la cáscara del fruto se puede justificar porque los mismos son componentes que se encuentran presentes en las ceras, que son una modificación de la pared celular de los frutos, que los protegen contra la evaporación excesiva de agua (30).

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES DE SEMILLA, JUGO Y CÁSCARA DE *PASSIFLORA EDULIS* FLAVICARPA

En la tabla 12 se presentan los compuestos identificados en los aceites esenciales de semilla, jugo y cáscara de *Passiflora edulis* Flavicarpa. Se identificó un total de 60 compuestos, de los cuales 18 se encontraban en la semilla, 41 en el jugo y 16 en la cáscara. No obstante, algunos se repitieron en cada parte de la fruta.

TABLA 12: COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE SEMILLA, JUGO Y CÁSCARA DE *PASSIFLORA EDULIS* FLAVICARPA

| PICO | COMPUESTO | % DE ÁREA | | |
|------|---|-----------|------|---------|
| | | SEMILLA | JUGO | CÁSCARA |
| 1 | Linalol | 0,89 | 0,44 | 1,06 |
| 2 | Ocimenol | | 0,25 | |
| 3 | 4-Terpineol | | 0,16 | |
| 4 | α -fenil-acetaldehído | 1,69 | | |
| 5 | Fenil-acetaldehído | | | 0,83 |
| 6 | α -terpineol | | 1,28 | 0,65 |
| 7 | 1-Decanol | | 0,36 | |
| 8 | Butanoato de 3-Mercaptohexilo | | 1,01 | |
| 9 | Dihidro β - ionona | | 1,61 | |
| 10 | Dihidro β - ionol | | 1,11 | |
| 11 | Cinamato de etilo (ácido 2-propenoico 3 fenil etil éster) | | 0,41 | |
| 12 | β - ionona | | 0,52 | |
| 13 | α -farneseno | | 0,73 | |
| 14 | Ionol | 12,10 | 2,8 | 13,15 |
| 15 | 2,6-dimetil-2,6-octadieno | | 0,21 | |
| 16 | Hexanoato de bencilo | | 0,20 | |
| 17 | Nerolidol | | 1,42 | |
| 18 | Caproato de hexilo (hexanoato de hexilo) | 1,16 | | |
| 19 | Caprilato de hexilo (Octanoato de hexilo) | | 5,95 | |
| 20 | Laurato de etilo (Dodecanoato de etilo) | | 0,49 | |
| 21 | Hexanoato de 3-Mercaptohexilo | | 1,23 | |
| 22 | 2-Pentadecanona | | 0,39 | |

| | | | | |
|----|---|-------|------|------|
| 23 | 2-eicosanol | | 0,20 | |
| 24 | Farnesol | | 0,75 | |
| 25 | δ-nerolidol | | | 0,88 |
| 26 | Decanoato de hexilo | | 0,89 | |
| 27 | Miristato de etilo (Tetradecanoato de etilo) | | 0,32 | |
| 28 | 2-Heptadecanona | | 0,82 | |
| 29 | 2-Heptadecanol | | 0,39 | |
| 30 | Palmitato de metilo (Hexadecanoato de metilo) | | 0,30 | |
| 31 | Palmitoleniato de etilo (9-Hexadecenoato de etilo) | | 0,38 | |
| 32 | Palmitato de vinilo (Hexadecanoato de etenilo) | | 2,8 | |
| 33 | Palmitato de etilo (Hexadecanoato de etilo) | | 2,01 | |
| 34 | Ácido palmítico (ácido Hexadecanoico) | | 0,13 | |
| 35 | Palmitaldehído (Hexadecanal) | 2,18 | | 6,24 |
| 36 | Heneicosano | 1,66 | 0,95 | 0,83 |
| 37 | Linoleato de etilo (9,12-Octadecadienoato de etilo) | 0,98 | 0,43 | |
| 38 | Palmitato de metilo (Hexadecanoato de metilo) | 0,51 | | |
| 39 | Linoleniato de etilo (9,12,15-Octadecatrienoato de etilo) | | 2,13 | |
| 40 | Docosano | | 0,52 | 0,78 |
| 41 | Palmitolenato de etilo (Hexadecenoato de etilo) | 0,51 | | |
| 42 | Palmitato de etilo (Hexadecanoato de etilo) | 5,79 | | 3,56 |
| 43 | 1-heneicoseno | | 1,43 | |
| 44 | Tricosano | | 2,19 | |
| 45 | 1-Docoseno | | 0,19 | |
| 46 | Ácido linoleico (Ácido 9,12- octadecadienoico) | | | 1,00 |
| 47 | Oleato de etilo (Octadecenoato de etilo) | 0,98 | | |
| 48 | Oleato de etilo (9-octadecenoato de etilo) | | | 0,98 |
| 49 | Nonadecano | 1,29 | | |
| 50 | 9-tricoseno | | 0,88 | 0,90 |
| 51 | Eicosano | | 1,16 | 0,45 |
| 52 | Heptacosano | | 1,07 | 3,29 |
| 53 | 1-nonadeceno | | 0,51 | |
| 54 | Pentacosano | 1.74 | | 1,46 |
| 55 | Octadecano | | | 0,89 |
| 56 | 9-nonadeceno | 1.36 | | |
| 57 | Tricosano | 5.13 | | |
| 58 | Eicosano | 0.59 | | |
| 59 | 9-tricoseno | 0.41% | | |
| 60 | Heptadecano | 1.08% | | |

ELABORADO POR: ARNOLD ORTEGA CALLE

Además del ionol y el linalol, otro compuesto que se encontró en las tres partes del fruto es el heneicosano un alcano que no es utilizado en la industria alimenticia. Sin embargo, forma parte en la elaboración de los aceites lubricantes, de las ceras y la parafina que se encuentra en las velas (31).

Es importante destacar que en el aceite esencial de semilla se encontraron sustancias que presentan actividad antioxidante, las mismas que contribuyen a la salud y a la prevención de enfermedades tales como el cáncer. En la actualidad se están realizando estudios del uso de aceites vegetales para la producción de biodiesel, por lo que podría ser una opción viable (20).

3.4 Análisis de actividad antibacteriana

La TABLA 13 muestra los resultados cualitativos de la actividad antibacteriana de semilla, jugo y cáscara de *Passiflora edulis* Flavicarpa. Sin embargo, no existe inhibición de la cepa bacteriana de *E Coli* con las concentraciones de aceites esenciales utilizadas.

Diversos estudios demuestran que los aceites esenciales se comportan mejor con las bacterias Gram positivas que con las Gram negativas debido a la interacción que existe entre los aceites

TABLA 13: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE SEMILLA Y CÁSCARA DE *PASSIFLORA EDULIS* FLAVICARPA

| CEPA BACTERIANA | CONTROL NEGATIVO | SEMILLA | | | JUGO | | | CÁSCARA | | |
|-----------------|------------------|---------|-----|-----|------|-----|-----|---------|-----|-----|
| | TWEEN 20 | 5% | 10% | 20% | 5% | 10% | 20% | 5% | 10% | 20% |
| <i>E. coli</i> | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N |

N= NEGATIVO P= POSITIVO

ELABORADO POR: ARNOLD ORTEGA CALLE

esenciales y la estructura de la pared celular (10). No obstante, concentraciones superiores al 20% no fueron probadas debido al bajo rendimiento de los aceites esenciales de cada una de las partes del fruto involucrada.

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

Se logró extraer mediante hidrodestilación asistida por radiación de microondas los aceites esenciales de semilla (0,01450%), jugo (0,02977%) y cáscara (0,02222%) de *Passiflora edulis* Flavicarpa. Considerando a la semilla y a la cáscara como subproducto, el mejor rendimiento entre estos dos fue el de la cáscara.

Los aceites esenciales de semilla, jugo y cáscara de *Passiflora edulis* Flavicarpa fueron caracterizados por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas detectándose un total de 60 compuestos diferentes, de los cuales 18 corresponden a la semilla, 41 compuestos al jugo y 16 compuestos a la cáscara, tomando en cuenta que algunos de ellos se repiten.

De los compuestos identificados en los aceites esenciales de semilla, jugo y cáscara de *Passiflora edulis* Flavicarpa, se encontró ionol en las tres partes analizadas de la fruta, este compuesto es un marcador del género *Passiflora* que caracteriza al aroma de los frutos encontrándose un porcentaje de área de 12,8% para semilla, 2,8% para jugo y 13,15% para cáscara. Otros compuestos de mucha importancia por sus propiedades antimicrobianas y medicinales como: linalol y alfa terpinol fueron encontrados en la cáscara.

Las concentraciones de 5%,10% y 20% de aceites esenciales obtenidos a partir de semilla, jugo y cáscara de *Passiflora edulis* Flavicarpa diluidas en Tween al 20% no evidenciaron inactivación microbiana para *Escherichia Coli*. Sin embargo, las concentraciones evaluadas no superaron el 20% de concentración debido al bajo rendimiento de aceite esencial obtenido.

4.2. Recomendaciones

Procesar la cáscara inmediatamente después de separación de las semillas y el jugo, ya que existe pérdida de humedad a medida que pasa el tiempo.

Realizar intervalos de descanso más largos durante el proceso de extracción con la finalidad de evitar el reflujo y pérdida de la muestra extraída.

Separar el aceite esencial extraído con éter dietílico de manera inmediata para minimizar pérdidas ya que la naturaleza volátil de los aceites esenciales extraídos podría afectar el rendimiento.

Evaluar concentraciones inhibitorias para *Escherichia Coli* superiores al 20%, pero deberían probarse con el aceite esencial de la cáscara ya que este presentó un número mayor de compuestos que poseen actividad antibacteriana.

BIBIOGRAFÍA

1. PÉNDOLA, F., Estudio global para identificar oportunidades de mercados de frutas y hortalizas de la region andina. Perú: IICA, 1997, Pág. 173.
2. CERDAS, M., Las frutas. San José: Editorial de la Universidad de Costa Rica, 2003, Pág. 83.
3. GARCÍA, T., Cultivo de Maracuyá Amarillo. El Salvador: Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal, 2002.
4. BORJA, C., Caracterización de la principales variedades de Maracuyá (*Passiflora edulis flavicarpa*) en Ecuador. Quito: Tesis, Facultad de la Ingeniería en Industrialización de Alimentos, Universidad Técnica Equinoccial, 2008.
5. VALAREZO, A., Manejo del Cultivo de Maracuyá en el Litoral Ecuatoriano . Portoviejo: INIAP, 2009.
6. CAMARGO, G. "El Maracuyá". Obtenido en línea y disponible en: <http://lamaracuya.blogspot.com/> Consultado en Diciembre de 2010.
7. MAIER, C. Obtenido en línea y disponible en: <http://www.botanical-online.com/maracuya.htm#listado>. Consultado en Enero de 2015.
8. LÓPEZ, R., La producción y mercado mundial de maracuyá. México: Apoyo y Servicio a la comercialización agropecuaria, 1995.
9. MARTÍNEZ, A. , Aceites Esenciales . Medellín: Universidad de Antioquia, Facultad Química Farmacéutica, 2003.
10. ZEKARIA, D. (S.F.). Los Aceites Esenciales una alternativa a los microbianos, Laboratorios Calier.
11. Medicinales, U. I. (S.F.). Obtenido en línea y disponible en <http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema7.pdf> Consultado en Octubre de 2014.

12. OSORIO, C. (S.F.). Maracuyá (*Passiflora edulis* Sims), Una gran alternativa como Fitomedicamento, Cartagena de Indias.
13. ACEVEDO, D., NAVARRO, M., & MONTERO, P., Composición Química del Aceite Esencial de las hojas de Toronjil (*Melissa officinalis* L). Universidad de Cartagena, Facultad de Ingeniería, Programa de Ingeniería de Alimentos, 2013.
14. Universidad Nacional Abierta y a Distancia . (S.F.). Obtenido en línea de http://datateca.unad.edu.co/contenidos/401552/Capitulo_4/42hidrodestilacin.html Consultado en Septiembre de 2014.
15. CERPA, M., Hidrodestilación de Aceites Esenciales: Modelado y Caracterización. Valladolid: Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente, 2007.
16. MÁRQUEZ, S., Evaluación del Rendimiento en la Obtención del Aceite Piper Auritum Kunth mediante la hidrodestilación asistida por microondas. Veracruz : Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Químicas, 2011.
17. GUTIÉRREZ, M., & DROGUET, M., La Cromatografía de Gases y la Espectrometría de Masas: Identificación de los compuestos causantes del mal olor, Barcelona : Boletín Intexter (U.P.C), 2002.
18. BARQUERO, M., Principios de la Cromatografía de Gases. San José: UCR, 2006.
19. PARADA y col., Variabilidad del rendimiento de aceite esencial de *Calycolpus moritzianus* nativo del norte de Santander: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas, vol. 9; 2011, Pág. 48-54.

20. CASSIA, R., & NEUZA, J., Yellow Passion Fruit Seed Oil (*Passiflora edulis* Flavicarpa): Physical and Chemical Characteristics. São José do Rio Preto: Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos; Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2012.
21. BAUER, K., GARBE, D., & SURBURG, H., Common Fragrances and flavors material preparation, properties and uses. Weinheim: Wiley-VCH, 1997.
22. BURDOCK, G., Encyclopedia of food and color additives. Florida: CRC Press, Inc, 1997.
23. ALIBABA, Obtenido en línea y disponible en: <http://spanish.alibaba.com/product-gs/phenyl-acetaldehyde-326842179.html> Consultado en Enero 2015.
24. WINTERHALT, B., Terpenoids in the juice of the purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). Würzburg: Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1990.
25. HERDERICH, M., & WINTERHALTER, P., 3-hydroxy-retro-a-ionol. A natural precursor of idomeric edulans in purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). Würzburg: Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1991.
26. BARLUENGA, J., Manual de Química Orgánica. Barcelona: REVERTÉ S.A, 1987.
27. AKHILA, A., Essential Oil-Bearing Grasses. Florida: CRC-Press, 2010.
28. BRIELMANN, H., SETZER, W., & KAUFMAN, P., The Chemical Components of Plants. Florida: CRC Press, 2006.
29. SAADIA, H., HALA, M., & GORANSSON, H. (s.f.). Alpha Terpineol: A Potential Anticancer Agent Agent. Beirut: Division of Clinical Pharmacology, Department of Medical Sciences, Department of Biology, American University of Beirut, Lebanon.

30. ZERAIK., Maracujá um alimento funcional. Revista Brasileira de farmacognosia, 2014, Pág. 20.
31. VEGA, E. (S.F.), Hidrocarburos Alifáticos. Hidalgo: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

APÉNDICES

APÉNDICE A

FICHA TÉCNICA NUTRIENT AGAR DIFCO

Nutrient Agar

Intended Use

Nutrient Agar is used for the cultivation of bacteria and for the enumeration of organisms in water, sewage, feces and other materials.

Summary and Explanation

Early in the 20th century, the American Public Health Association published the formula for a general purpose medium for the growth of a wide variety of nonfastidious microorganisms.¹ This was in recognition of the need for a standardized medium for the use in the examination of water and wastewater, dairy products and various foods. This relatively simple formulation has stood the test of time, and with the name of Nutrient Agar, is still specified in current compendia of methods for the microbiological examination of a broad spectrum of materials.²⁻⁴ Additionally, it is used in the laboratory for the cultivation and maintenance of nonfastidious species.

User Quality Control

Identity Specifications

Difco™ Nutrient Agar

Dehydrated Appearance: Tan, free-flowing, homogeneous.

Solution: 2.3% solution, soluble in purified water upon boiling. Solution is light to medium amber, clear to slightly opalescent.

Prepared Appearance: Light amber, vary slightly to slightly opalescent.

Reaction of 2.3%

Solution at 25°C: pH 6.8 ± 0.2

Cultural Response

Difco™ Nutrient Agar

Prepare the medium per label directions. Inoculate and incubate at 35 ± 2°C for 18-48 hours.

| ORGANISM | ATCC [®] | MEDIUM CODE | RECOVERY |
|-------------------------------|-------------------|-------------|----------|
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 19433 | 10F-10F | Good |
| <i>Escherichia coli</i> | 25922 | 10F-10F | Good |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 27853 | 10F-10F | Good |

Principles of the Procedure

Nutrient Agar consists of peptone, beef extract and agar. This relatively simple formulation provides the nutrients necessary for the replication of a large number of microorganisms that are not excessively fastidious. The beef extract contains water-soluble substances including carbohydrates, vitamins, organic nitrogen compounds and salts. Peptones are the principle sources of organic nitrogen, particularly amino acids and long-chained peptides. Agar is the solidifying agent.

Formula

Difco™ Nutrient Agar

Approximate Formula* Per Liter

| | | |
|-------------------|------|----------|
| Beef Extract..... | 3.0 | g/100 ml |
| Peptone..... | 5.0 | |
| Agar..... | 15.0 | |

*Adjusted as for supplemented as required to meet performance criteria.

Directions for Preparation from Dehydrated Product

1. Suspend 23 g of the powder in 1 L of purified water. Mix thoroughly.
2. Heat with frequent agitation and boil for 1 minute to completely dissolve the powder.
3. Autoclave at 121°C for 15 minutes.
4. Test samples of the finished product for performance using stable, typical control cultures.

Procedure

Liquefy the agar if prepared tubes are used, cool to 45-50°C and pour into Petri dishes. Allow to solidify for at least 30 minutes. Use standard procedures to obtain isolated colonies from specimens. Incubate plates at 35 ± 2°C for 18-24 hours and 42-48 hours, if necessary.

Tubed slants are used primarily for the cultivation and maintenance of pure cultures. They should be inoculated with an inoculating loop and incubated under the same conditions as the plated medium.

Expected Results

Examine plates for growth.

Growth from tubes inoculated with pure cultures may be used for biochemical and/or serological testing.

References

1. American Public Health Association. 1917. Standard methods of water analysis, 1st ed. American Public Health Association, New York, NY.
2. U.S. Food and Drug Administration. 2001. Bacteriological analytical manual, 8th ed. ADAC International, Walkersburg, MD.
3. Evans, R.C. and Reed, J.L. 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater, 19th ed., vol. 1. American Public Health Association, Washington, D.C.
4. Horvitz, J.A. 2007. Official methods of analysis of ADAC International, 18th ed., vol. 1. ADAC International, Walkersburg, MD.
5. Dorsett, G.L. 2007. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.

Availability

Difco™ Nutrient Agar

AOAC BAM CCAM COMPE ISO SMWW USDA

| | | |
|----------|--------|--------------------|
| Cat. No. | 212000 | Dehydrated - 100 g |
| | 213000 | Dehydrated - 500 g |
| | 211665 | Dehydrated - 2 kg |

BBL™ Nutrient Agar

AOAC BAM CCAM COMPE ISO SMWW USDA

United States and Canada

| | | |
|----------|--------|----------------------------------|
| Cat. No. | 297801 | Prepared Plates - Pkg. of 10* |
| | 220968 | Prepared Pour Tubes - Pkg. of 10 |
| | 220971 | Prepared Slants - Ctn. of 100 |

APÉNDICE B

MEDICIÓN DEL TAMAÑO MEDIANTE UN VERNIER



APÉNDICE C

MEDICIÓN DE GRADOS BRIX CON REFRACTOMETRO PAL-1



APÉNDICE D

CÁLCULOS PARA LA DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

Los resultados de humedad se calculan mediante la siguiente ecuación:

$$HG = \frac{M2 - M1}{M2 - M} * 100$$

Donde:

HG= pérdida de peso por desecación (%)

M2= masa de la cápsula con la muestra de ensayos (g)

M1=masa de la cápsula con la muestra de ensayos desecada (g)

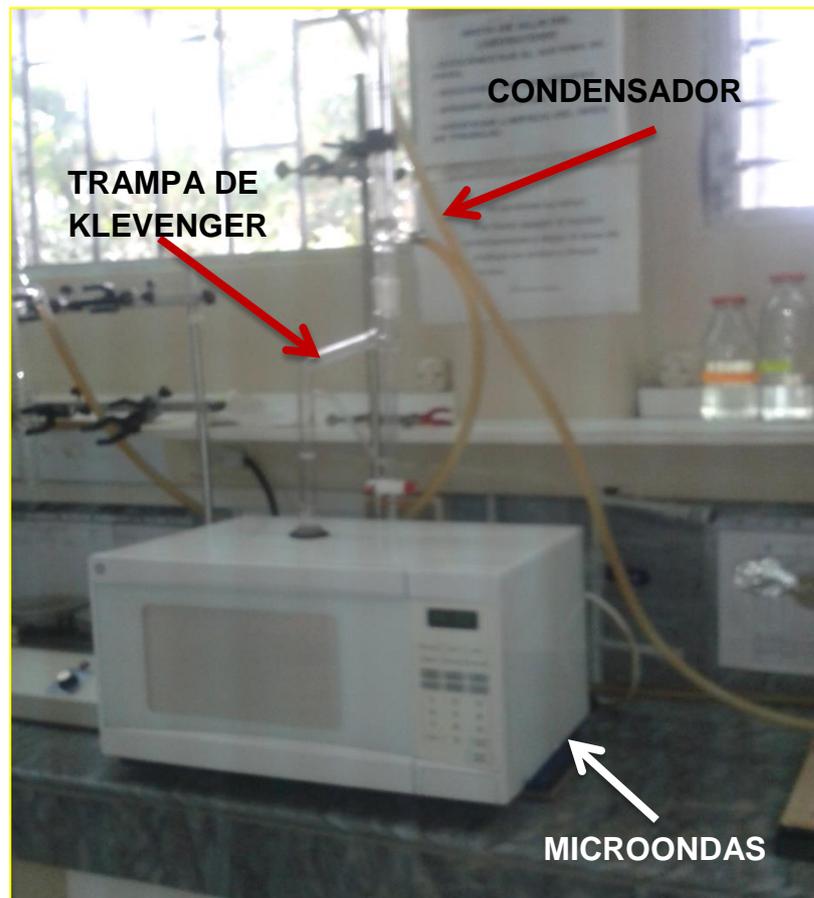
M= masa de la cápsula vacía

100= factor matemático

Los resultados se aproximan a las décimas

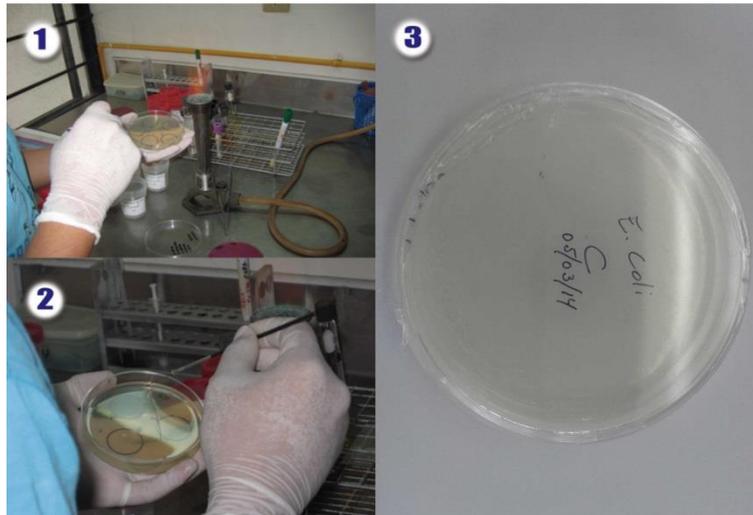
APÉNDICE E

HIDRODESTILACIÓN ASISTIDA POR RADIACIÓN MICROONDAS



APÉNDICE F

ANÁLISIS DE INHIBICIÓN DE *ESCHERICHIA COLI*



1: Preparación de medio Agar Nutrient Difco 2: Inoculación de *E. coli*, 3: Análisis de resultados

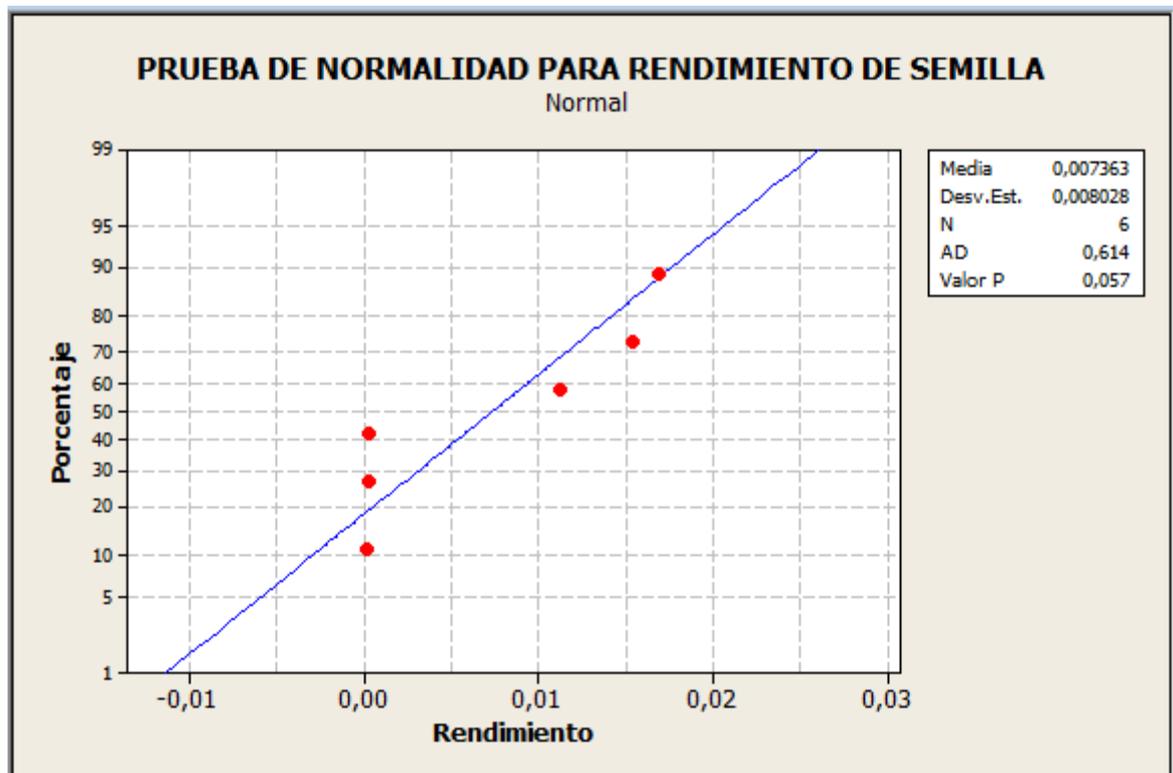
APÉNDICE G

PRUEBA DE NORMALIDAD PARA RENDIMIENTO DE SEMILLA

Las hipótesis propuestas fueron las siguientes:

H_0 : datos poseen distribución normal

H_1 : datos no poseen distribución normal



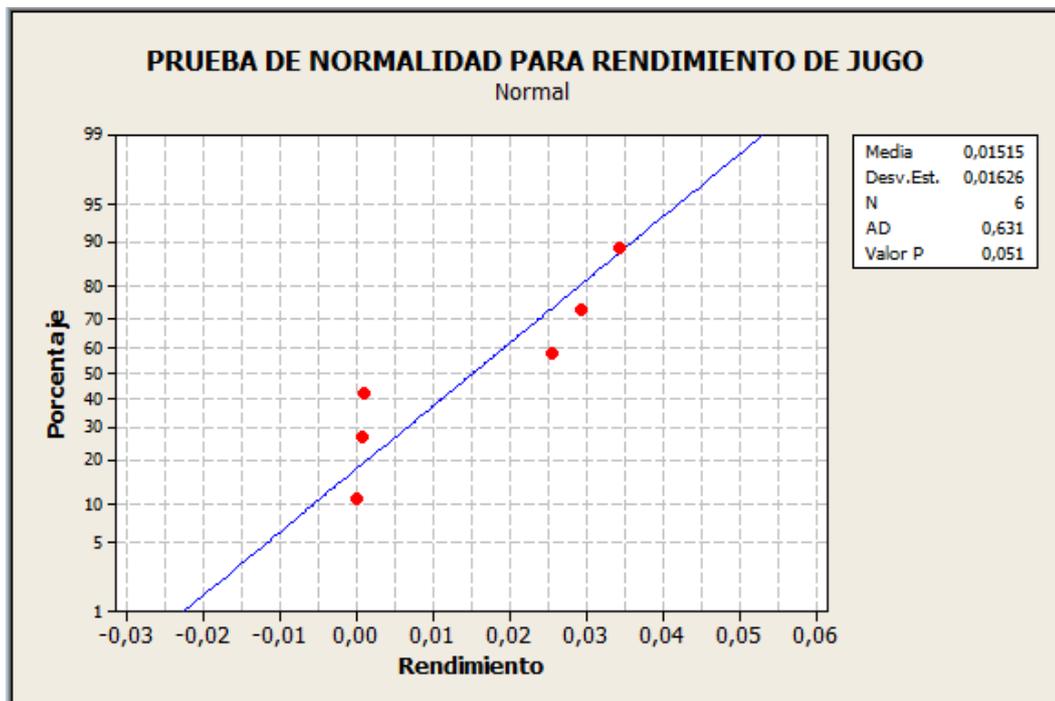
El valor p de 0,057 indica que existe suficiente evidencia estadística para aceptar H_0 , por lo tanto los datos expuestos para el rendimiento de aceite esencial de semilla de *Passiflora edulis* Flavicarpa poseen distribución normal.

PRUEBA DE NORMALIDAD PARA RENDIMIENTO DE JUGO

Las hipótesis propuestas fueron las siguientes:

H_0 : datos poseen distribución normal

H_1 : datos no poseen distribución normal



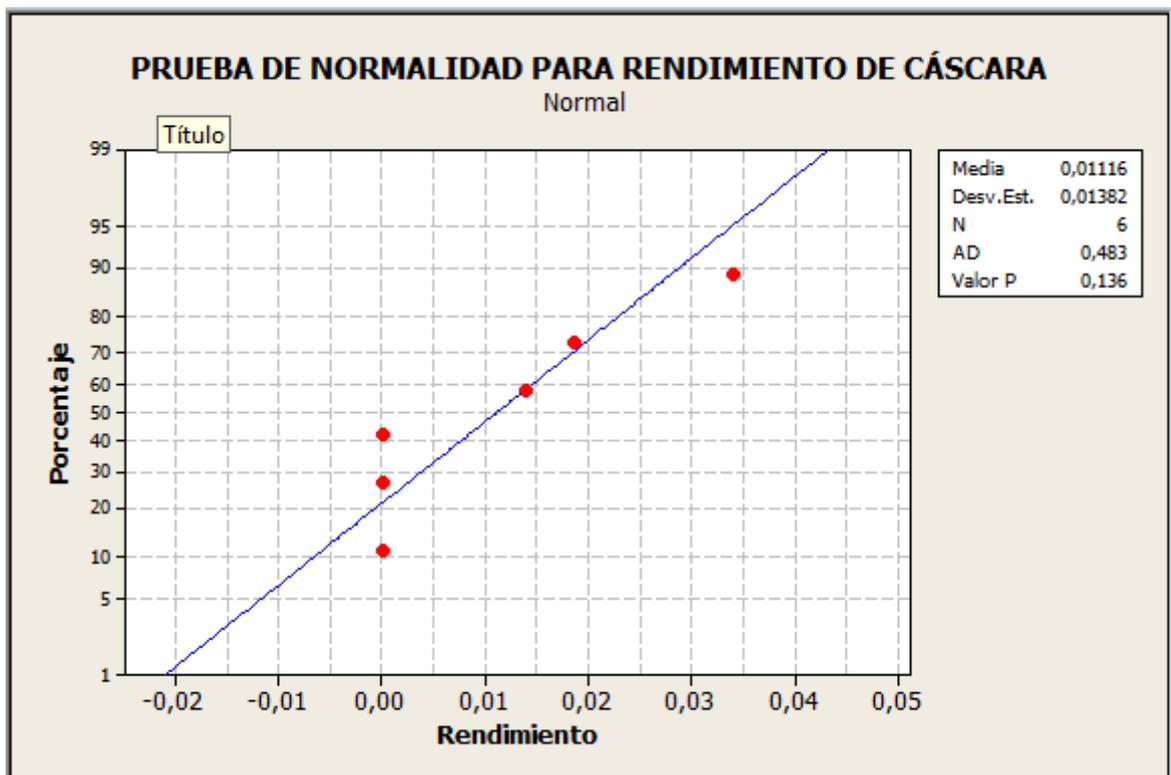
El valor p de 0,051 indica que existe suficiente evidencia estadística para aceptar H_0 , por lo tanto los datos expuestos para el rendimiento de aceite esencial de jugo de *Passiflora edulis* Flavicarpa poseen distribución normal.

PRUEBA DE NORMALIDAD PARA RENDIMIENTO DE CÁSCARA

Las hipótesis propuestas fueron las siguientes:

H_0 : datos poseen distribución normal

H_1 : datos no poseen distribución normal



El valor p de 0,136 indica que existe suficiente evidencia estadística para aceptar H_0 , por lo tanto los datos expuestos para el rendimiento de aceite esencial de cáscara de *Passiflora edulis* Flavicarpa poseen distribución normal.

APÉNDICE H

PESO Y DIÁMETRO DE *PASSIFLORA EDULIS*

FLAVICARPA

| Número de Muestra | Diámetro (cm) | Peso (gr) |
|-------------------|---------------|-----------|
| 1 | 7,7 | 225,11 |
| 2 | 6,8 | 197,90 |
| 3 | 7,2 | 228,89 |
| 4 | 7,2 | 176,14 |
| 5 | 6,5 | 158,72 |
| 6 | 6,5 | 165,48 |
| 7 | 6,9 | 150,72 |
| 8 | 5,3 | 79,68 |
| 9 | 6,5 | 153,19 |
| 10 | 6,4 | 108 |
| 11 | 7 | 176,07 |
| 12 | 6,8 | 170,9 |
| 13 | 6,4 | 152,71 |
| 14 | 7 | 144,93 |
| 15 | 6,4 | 121,76 |
| 16 | 7,2 | 189,75 |
| 17 | 7,2 | 153,62 |
| 18 | 6,2 | 132,74 |
| 19 | 6,7 | 126,02 |
| 20 | 6,3 | 101,78 |
| 21 | 6,3 | 140,13 |
| 22 | 6,8 | 165,37 |
| 23 | 5,7 | 66,23 |
| 24 | 6,3 | 101,85 |
| 25 | 6,2 | 100,28 |
| 26 | 7 | 171,66 |
| 27 | 6,4 | 141,21 |
| 28 | 6,7 | 140,51 |
| 29 | 6,6 | 119,53 |

| | | |
|---------------------------------|--------------------|-------------------|
| 30 | 6,4 | 150,81 |
| 31 | 7 | 179,34 |
| 32 | 5,8 | 89,78 |
| 33 | 5,9 | 88,73 |
| 34 | 6,4 | 158,46 |
| 35 | 6,2 | 130,50 |
| 36 | 6,4 | 115,83 |
| 37 | 5,8 | 100,45 |
| 38 | 5,6 | 80,1 |
| 39 | 6,9 | 145,12 |
| 40 | 6,8 | 153,18 |
| 41 | 6 | 132,12 |
| 42 | 6,5 | 134,88 |
| 43 | 6 | 90,29 |
| 44 | 7 | 139,14 |
| 45 | 6,2 | 139,10 |
| 46 | 7 | 197 |
| 47 | 6,6 | 140,90 |
| 48 | 6 | 115,07 |
| 49 | 6,4 | 146,84 |
| 50 | 6,7 | 146,30 |
| Media= | 6,516 | 140,6964 |
| Desviación standard= | 0,479097792 | 35,8902692 |

APÉNDICE I

NORMA NTE-INEN 1971:2012

REQUISITOS MARACUYÁ

CDU: 634
ICS: 67.080.20



CIU: 1110
AL: 02.03-453

| Norma Técnica Ecuatoriana | MARACUYÁ. REQUISITOS | NTE INEN 1910:2012 |
|---|----------------------|--------------------|
| <p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece los requisitos generales que debe cumplir el maracuyá para ser consumido en estado fresco, incluido aquellos destinados al procesamiento industrial.</p> <p style="text-align: center;">2. DEFINICIONES</p> <p>2.1 Maracuyá. Fruto que pertenece a la familia Passifloraceae, género Passiflora, especie edulis, variedad flavicarpa degener (amarilla), variedad púrpura sims (morada), y se le conoce también con el nombre de Fruta de la Pasión.</p> <p>2.2 Tipo de maracuyá. Para objeto de esta norma, es el carácter dimensional del maracuyá lo que permite clasificarlo por su tamaño.</p> <p>2.3 Grado de maracuyá. Es el valor porcentual de defectos admitidos para un mismo tipo de maracuyá.</p> <p>2.4 Maracuyá fuera de norma. Es aquel que no cumple con los requisitos establecidos por esta norma.</p> <p>2.5 Madurez de cosecha. Fruto que ha completado su desarrollo fisiológico dándole una consistencia firme y que conserva las características propias de la variedad, permitiendo su manipulación y transporte.</p> <p>2.6 Madurez uniforme. Estado de desarrollo homogéneo que alcanzará el maracuyá como resultado del proceso de maduración.</p> <p>2.7 Sobremadurez. Estado que alcanza el fruto en el proceso de maduración, luego de completar su desarrollo fisiológico y se caracteriza por tener el mesocarpio arrugado por deshidratación.</p> <p>2.8 Maracuyá fresca. Fruto que luego de la recolección, no sufre ningún cambio que afecte su maduración natural.</p> <p>2.9 Maracuyá pintón. Cuando el fruto no ha alcanzado la madurez de cosecha y el color característico de la variedad, no se extiende en toda la superficie del fruto; el mesocarpio es parcialmente verde, duro e intensamente brillante.</p> <p>2.10 Maracuyá defectuoso. Fruto con uno o más defectos que afecten su calidad comercial.</p> <p>2.11 Defectos tolerables. (Que no afecten la aptitud de consumo). Pequeñas manchas, rajaduras, magulladuras, decoloraciones, daños físicos o mecánicos que afecten superficialmente la presentación del maracuyá.</p> <p>2.12 Defectos no tolerables. (Que afectan la aptitud de consumo). Lesiones causadas por microorganismos, hongos, bacterias, etc. Insectos y otros; grietas, cortes, perforaciones, rajaduras y magulladuras profundas que afecten la presentación externa e interna del maracuyá.</p> <p style="text-align: center;">3. CLASIFICACIÓN</p> <p>3.1 El maracuyá, en función de su tamaño, según el diámetro ecuatorial, se clasifica como se indica en la tabla 1.</p> | | |

TABLA 1. Clasificación del maracuyá según su tamaño.

| TIPO | TAMAÑO | Díámetro en mm |
|------|---------|----------------|
| I | Grande | Más de 60 |
| II | Mediano | 50 - 59 |
| III | Pequeño | 40 - 49 |

3.2 Para cada tipo se establecen los grados de calidad, como se indica en la tabla 2.

TABLA 2. Grados de calidad del maracuyá

| CARACTERÍSTICAS | GRADO 1 MÁXIMO | GRADO 2 MÁXIMO |
|--|----------------|----------------|
| Defectos tolerables % | 5 | 10 |
| Diferencia de tamaño % | 10 | 10 |
| por defecto, por unidad de empaque en % de masa (peso) | | |

4. DISPOSICIONES GENERALES

4.1 El maracuyá en cualesquiera de los tipos de selección, debe presentar caracteres de forma, tamaño, color de pulpa y epidermis (cáscara) que caracterizan a la variedad.

4.2 La madurez de cosecha deberá permitir la conservación adecuada del producto en condiciones normales de manipuleo, almacenamiento y transporte.

5. REQUISITOS

5.1 El maracuyá para su consumo debe estar fisiológicamente bien desarrollado, ímplo, entero, libre de daños ocasionados por ataque de insectos, enfermedades, magulladuras, podredumbre, cicatrices, cortaduras, sin humedad exterior anormal, con el aroma y sabor ácido agradable, jugoso, típico de la variedad.

5.2 Hasta que se expidan las Normas INEN correspondientes, para los límites máximos de residuos de plaguicidas y productos afines en alimentos, se adoptarán las recomendaciones del Códex Alimentarius.

5.3 **Requisitos complementarios.** La comercialización de este producto debe sujetarse con lo dispuesto en la Ley de Pesas y Medidas y las Regulaciones correspondientes.

(Continúa)

DESCRIPTORES: Industria alimentaria, productos agrícolas, hortalizas frescas, sembo, requisitos.

6. MUESTREO

6.1 El muestreo del maracuyá se efectuará de acuerdo con la Norma NTE INEN 1750.

7. INSPECCIÓN

7.1 Si la muestra inspeccionada no cumple con uno o más de los requisitos y parámetros establecidos en esta Norma, se repetirá la inspección en otra muestra. Cualquier resultado no satisfactorio en este segundo caso será motivo para considerar el lote como fuera de Norma, quedando su comercialización sujeta al acuerdo de las partes interesadas.

7.2 Si la muestra inspeccionada no cumple con el tipo y grado declarado en el rótulo o etiqueta del envase o embalaje, el proveedor deberá rectificar la información suministrada previamente a su aceptación.

8. MÉTODOS DE ENSAYO

8.1 El proceso de verificación de los requisitos del tamaño del producto, así como sus defectos, se realizará de acuerdo al Anexo A, de esta Norma.

9. EMBALAJE Y ROTULADO

9.1 **Embalaje.** El maracuyá debe comercializarse al granel o en cajas rígidas de madera, cartón, plástico rígido o una combinación de éstos, de una capacidad máxima de 15 Kg, que reúna las condiciones de higiene, ventilación y resistencia a la humedad, manipulación y transporte, de manera que garantice una adecuada conservación del producto. No se permitirá el uso de ninguna clase de relleno.

9.2 **Rotulado.** Las inscripciones en el rótulo se harán en el empaque, en uno de sus lados, en etiquetas o impresiones con caracteres legibles, en español, y colocados de tal forma que no desaparezcan bajo condiciones normales de almacenamiento y transporte, debiendo contener la información mínima siguiente:

- Nombre del producto
- Tipo y grado de calidad, (INEN 1971)
- Contenido neto en kilogramos (Kg)
- Nombre y dirección del emparador y/o cultivador
- Lugar de origen del producto
- Fecha de empaque

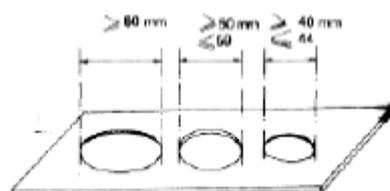
(Continúa)

DESCRIPTORES: Industria alimentaria, productos agrícolas, frutas cítricas, maracuyá, requisitos

ANEXO A

A.1 Determinación del tipo o tamaño

A.1.1 El maracuyá puede clasificarse manualmente, mediante el uso de calibre de fijos confeccionados en madera u otro material adecuado, tal como se aprecia en la figura siguiente:

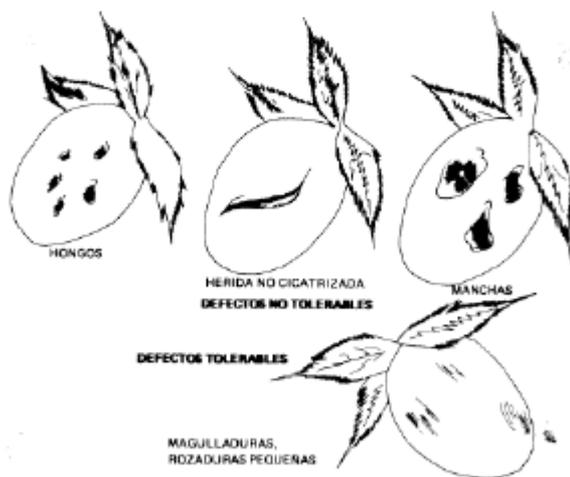


A.1.1.1 El maracuyá debe separarse según su tamaño y registrarse el número de cada tipo.

A.1.2 El maracuyá puede clasificarse mecánicamente, mediante el uso de máquinas adecuadas.

A.2 Defectos tolerables o no tolerables.

A.2.1 El maracuyá debe separarse según sus defectos y registrarse el número de cada grado.



(Continúa)

DESCRIPTORES: Industria alimentaria, productos agrícolas, hortalizas frescas, brócoli, requesitos.

APÉNDICE J

TAMAÑO DE *PASSIFLORA EDULIS FLAVICARPA* REPORTADO POR BORJA

TABLA N° 3. Tamaño de Maracuyá (*Passiflora edulis flavicarpa*)

| Tamaño | Longitud, mm | Diámetro, mm |
|---------|--------------|--------------|
| Grande | > 104 | > 77 |
| Mediano | 81 – 104 | 65 – 77 |
| Pequeño | < 81 | < 65 |

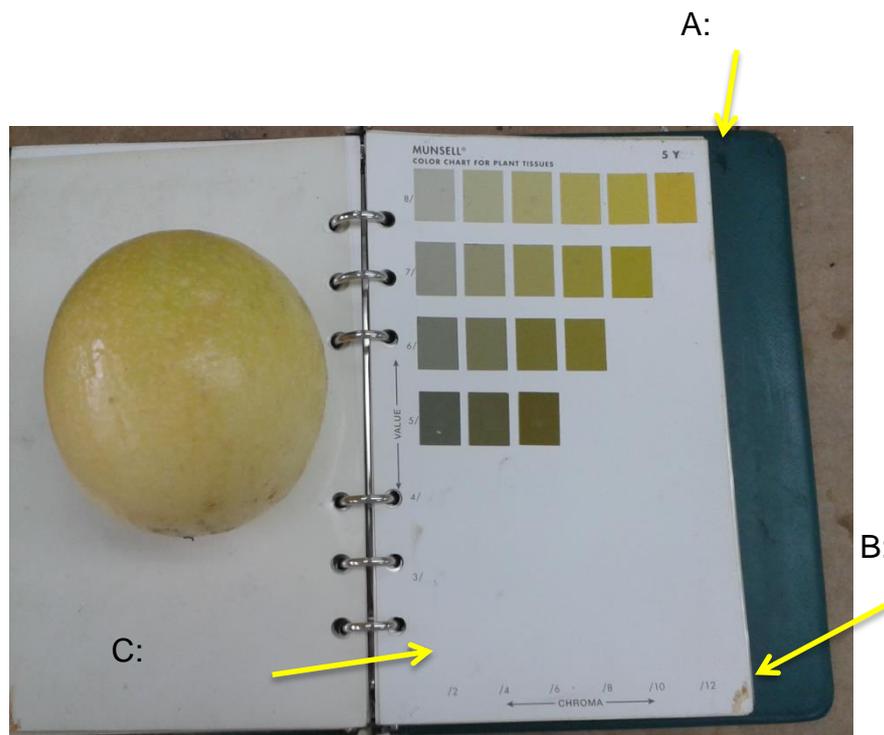
Fuente: Programa de Excel 2003

Elaborado por: Christian Borja

APÉNDICE K

MEDICIÓN DEL COLOR POR TABLA MUNSELL

Aquí se presenta un ejemplo de la medición del color por el sistema Munsell



APÉNDICE L

TABLA DE COLOR PARA *PASSIFLORA EDULIS* FLAVICARPA SEGÚN EMPRESA COLOMBIANA PROJUGOS.

| | | | | | | |
|---|--|---|---|---------------------------------|---------------------|------------------|
|  | | FICHA FRUTA | <table border="1"> <tr> <td>3-300204-007 Hoja No. 1 de 2</td> </tr> <tr> <td>Actualización 06</td> </tr> </table> | 3-300204-007 Hoja No. 1 de 2 | Actualización 06 | |
| 3-300204-007 Hoja No. 1 de 2 | | | | | | |
| Actualización 06 | | | | | | |
| | | RECEPCIÓN DE MARACUYA: Variedad Amarillo | FECHA: 2011-06-14 | | | |
| GRADO DE MADURACIÓN | BRIX MÍNIMO: 13,0 maduración completa, uniforme y sin indicio de fermentación. No debe ser blando ni acuoso. Debe estar en tre los niveles de 3 al 7 de acuerdo a la tabla de color. | | | | | |
| ASPECTO SENSORIAL | COLOR: La cáscara debe ser de color amarilla o roja y la pulpa debe ser amarilla-rojiza. De color morado, se recibe hasta máximo un 5% en peso de lo recibido. SABOR Y AROMA: Característicos de la fruta madura, sin indicios de fermentación ni sobremaduración. | | | | | |
| EMPAQUE | Canastillas plásticas perforadas (sin superar su capacidad máxima de carga); cuando se utilice empaque de polipropileno, este debe estar limpio o nuevo y que no haya sido utilizados para el empaque de insumos agrícolas. El empaque debe estar completamente limpio (por fuera y por dentro) y libres de olores extraños. La fruta no se debe empacar en bolsa plástica, <u>no se recibe fruta a granel o en caja de cartón</u> . | | | | | |
| TRANSPORTE | El vehículo en el cual se transporta la fruta debe estar en buenas condiciones de higiene, libre de excrementos; debidamente carpado para proteger la fruta del polvo, el sol o el agua y que permita su ventilación. No debe transportarse simultáneamente la fruta junto con otros materiales como: insumos químicos, agrícolas o combustibles que puedan contaminar o impregnar olores a la fruta, desechos (escombros), animales (de cualquier tipo), alimentos de naturaleza diferente a la fruta, frutas diferentes que transfieran olores o residuos químicos a la fruta convenida a entregar y otros de naturaleza no alimenticia. | | | | | |
| ASPECTOS GENERALES | La fruta debe presentar un aspecto sano, agradable, fresco y uniforme, sin daño mecánico excesivo, por lo que se recomienda que el vehículo se cargue en lo posible con fruta cosechada el mismo día. La fruta debe estar libre de hongos o indicios de descomposición o fermentación, sin mezcla de fruta verde y madura. No debe presentar impurezas como hojas, basuras, palos, puntillas u otros materiales metálicos. La fruta debe estar exenta de deterioro por insectos o roedores y de indicios de contaminación con sustancias extrañas. | | | | | |
| PLAGUICIDAS | En el caso que se haga uso de plaguicidas, estos deben tener el registro ICA y <u>corresponder a los niveles toxicológicos III y IV</u> . La fruta debe cumplir con los requisitos <u>de residualidad de pesticidas descritos</u> en la legislación nacional e internacional aplicable. | | | | | |
| TABLA DE COLOR | | | | | | |
|  | | | | | | |
| <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="text-align: center;">Aprobado por Gerencia</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">COPIA NO CONTROLADA</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Original Firmado</td> </tr> </table> | | | | Aprobado por Gerencia | COPIA NO CONTROLADA | Original Firmado |
| Aprobado por Gerencia | | | | | | |
| COPIA NO CONTROLADA | | | | | | |
| Original Firmado | | | | | | |

APÉNDICE M

GRADOS BRIX DE *PASSIFLORA EDULIS*

FLAVICARPA

| Número de muestra | Grados Brix |
|-------------------|-------------|
| 1 | 11,7 |
| 2 | 13 |
| 3 | 12,5 |
| 4 | 14,4 |
| 5 | 13,2 |
| 6 | 15,7 |
| 7 | 13,9 |
| 8 | 14,1 |
| 9 | 13,6 |
| 10 | 15,2 |
| 11 | 12,5 |
| 12 | 11,9 |
| 13 | 14 |
| 14 | 13,7 |
| 15 | 14,5 |
| 16 | 14,4 |
| 17 | 13,5 |
| 18 | 8,9 |
| 19 | 14,7 |
| 20 | 14,3 |
| 21 | 12 |
| 22 | 13,2 |
| 23 | 11,1 |
| 24 | 12 |
| 25 | 14,9 |
| 26 | 15,6 |
| 27 | 14,5 |
| 28 | 15,9 |

| | |
|---------------------------------|--------------------|
| 29 | 15,3 |
| 30 | 16,1 |
| 31 | 16,1 |
| 32 | 16,2 |
| 33 | 14,4 |
| 34 | 12,7 |
| 35 | 14,1 |
| 36 | 10,1 |
| 37 | 15,6 |
| 38 | 13,7 |
| 39 | 12,9 |
| 40 | 14,3 |
| 41 | 13,4 |
| 42 | 13,8 |
| 43 | 13,5 |
| 44 | 14,4 |
| 45 | 16,3 |
| 46 | 14,4 |
| 47 | 13,9 |
| 48 | 13,8 |
| 49 | 15,3 |
| 50 | 14 |
| Media= | 13,864 |
| Desviación standard= | 1,535798669 |

APÉNDICE N

CÁLCULOS DE HUMEDAD DE *PASSIFLORA EDULIS* FLAVICARPA POR EL MÉTODO CONVENCIONAL

PRIMERA MUESTRA

Capsula vacía = 60,652 gr

Capsula con muestra= 62,6883 gr

Capsula final = 60,9861 gr

$$R = [(\text{peso del vaso con aceite} - \text{peso del vaso vacío}) / \text{muestra en gr}] * 100$$

$$Hg = (M2 - M1) / (M2 - M) * 100$$

$$Hg = 83,5927\%$$

SEGUNDA MUESTRA

Capsula vacía= 60,457 gr

Capsula con muestra= 62,4674 gr

Capsula final= 61,2345 gr

$$R = [(\text{peso del vaso con aceite} - \text{peso del vaso vacío}) / \text{muestra en gr}] * 100$$

$$Hg = (M2 - M1) / (M2 - M) * 100$$

$$Hg = 61,1940\%$$

TERCERA MUESTRA

Capsula vacía= 60,448 gr

Capsula con muestra= 62,648 gr

Capsula final= 60,9041 gr

$$R = [(\text{peso del vaso con aceite} - \text{peso del vaso vacío}) / \text{muestra en gr}] * 100$$

$$Hg = (M2 - M1) / (M2 - M) * 100$$

$$Hg = 79,0909\%$$

| Contenido de Humedad % | |
|------------------------|--------|
| PRIMERA MUESTRA | 83,59% |
| SEGUNDA MUESTRA | 61,19% |
| TERCERA MUESTRA | 79,09% |

APÉNDICE O

Análisis comparativo entre rendimientos por test de Tukey

Análisis de la varianza

| Variable | N | R ² | R ² Aj | CV |
|---------------------|---|----------------|-------------------|-------|
| % de rendimiento AE | 9 | 0,56 | 0,41 | 30,66 |

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|---------|---------|----|---------|------|---------|
| Modelo. | 3,5E-04 | 2 | 1,8E-04 | 3,79 | 0,0862 |
| Muestra | 3,5E-04 | 2 | 1,8E-04 | 3,79 | 0,0862 |
| Error | 2,8E-04 | 6 | 4,6E-05 | | |
| Total | 6,3E-04 | 8 | | | |

Test:Tukey Alfa=0,01 DMS=0,02484

Error: 0,0000 gl: 6

| Muestra | Medias n | E.E. |
|--------------------------|----------|-----------|
| % rendimiento AE semilla | 0,01 3 | 3,9E-03 A |
| % rendimiento AE cáscara | 0,02 3 | 3,9E-03 A |
| % rendimiento AE jugo | 0,03 3 | 3,9E-03 A |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,01$)

