

Evaluación del control de la oxidación de la vitamina C en los jugos de los frutos de limón *Citrus limonium* variedad sutil, utilizando un antioxidante natural (extracto de hojas de *Vitis vinífera* L).

Carmen Silvia Klinar Barbuza¹, Jorge Chanllo Lavarello² y Artemio Chang Canales³.

1 Facultad de Farmacia y Bioquímica - UNICA

2 Facultad de Medicina Humana - UNICA

3 Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Amazon Ruby SAC. Perú.

RESUMEN

En el Perú, el consumo del jugo de limón es muy amplio y es necesario obtenerlo del fruto y utilizarlo casi de inmediato; ya que se oxida muy rápidamente y se alteran sus características fisicoquímicas y organolépticas; esto planteó la necesidad de desarrollar procesos para estabilizar el jugo de limón. En trabajo previo los antioxidantes BHA (butilhidroxianisol o E-320) y BHT (butilhidroxitolueno o E-321) mostraron ser eficientes para estabilizar la vitamina C contenida en el jugo de limón; sin embargo hay un impacto negativo del antioxidante en el sabor; el que es proporcional a la concentración del antioxidante. En el presente trabajo se utiliza un antioxidante natural EHV (extracto de hojas de vid) durante 8 semanas, se comprueba la estabilización de la vitamina C, cambios ligeros en olor y color y mayor impacto en cambios del sabor.

1. silviaklinarb@hotmail.com

ABSTRACT

In Peru, the consumption of lemon juice is very broad and it is necessary to obtain it from the fruit and use it almost immediately; since it oxidizes very quickly and its physicochemical and organoleptic characteristics are altered; this raised the need to develop processes to stabilize lemon juice. In previous work antioxidants BHA (butylhydroxyanisole or E-320) and BHT (butylhydroxytoluene or E-321) mostaon be efficient to stabilize the vitamin C contained in lemon juice; however there is a negative impact of the antioxidant on taste; which is proportional to the concentration of the antioxidant. In the present work, a natural antioxidant EHV (vine leaf extract) is used for 8 weeks, vitamin C stabilization, slight changes in odor and color and greater impact on taste changes are verified.

1. Introducción

En el Perú, el consumo del jugo de limón es muy amplio, principalmente en la elaboración del cebiche y en la preparación del pisco sour. Para el uso del jugo de limón, es necesario obtenerlo del fruto y utilizarlo, casi de inmediato; ya que se oxida muy rápidamente y se alteran sus características fisicoquímicas y organolépticas; por tanto, no es posible conservar el jugo de limón durante un periodo razonable para su utilización en la gastronomía, coctelería, etc. Esto plantea la necesidad de desarrollar procesos para estabilizar el jugo de limón. Debemos entender que la vitamina C, contenida en el jugo de limón, es una sustancia que se oxida con suma facilidad.

Dado la facilidad de la oxidación de la vitamina C, en el jugo de limón la oxidación de este compuesto es lo que origina los rápidos cambios organolépticos (cambio del sabor principalmente).

Los productos obtenidos de fuentes naturales (frutas y otros vegetales), conteniendo vitamina C, requieren del uso de estabilizadores que inhiban o prolonguen su tiempo de oxidación. En trabajo previo se estudió la posibilidad de controlar la estabilidad de la vitamina C en el jugo de limón, utilizando BHA y BHT ambos son eficientes para estabilizar la vitamina C contenida en el jugo de limón; la concentración de 0.04% es la más eficiente en ambos casos. En cuanto a los cambios organolépticos, el olor y color se mantienen inalterables en la concentración óptima, sin embargo hay un impacto negativo del antioxidante en el sabor; el que es proporcional a la concentración del antioxidante.

La finalidad del presente trabajo es evaluar la acción de los antioxidantes naturales (extracto de hojas de vid) en el control de la oxidación de la vitamina C presente en el jugo de limón, lo que permitiría la conservación de dicho jugo por un tiempo prolongado, manteniendo sus características fisicoquímicas y organolépticas. De esta manera se obtiene un producto que facilita, promociona y amplía su uso.

2. Generalidades

2.1 Breve descripción del material vegetal

Citrus limonium (limón, limonero).

Árbol, cultivado. Hojas grandes, los brotes tienen espinas. Las flores en racimo, con pétalos blancos en el haz y púrpuro en el envés. Frutos lisos o ligeramente rugosos de color amarillo. Semillas pequeñas y escasas.

Taxonomía:

Familia: Rutáceas

Género: Citrus

Especie: limonium

Nombre botánico: Citrus limonium L. var. sutil



2.2 Vitamina C

La vitamina C es una vitamina hidrosoluble. Es necesaria para el crecimiento y desarrollo normales. Las vitaminas hidrosolubles se disuelven en agua. Las cantidades sobrantes de la vitamina salen del cuerpo a través de la orina. Eso quiere decir que la persona necesita un suministro constante de tales vitaminas en la dieta.

El organismo de los humanos no es capaz de producir Vitamina C (casi todos los organismos animales y vegetales, si lo hacen) por lo que debemos ingerirla

desde fuentes externas. La vitamina C o Ácido ascórbico, es también llamada la Vitamina antiescorbútica debido a que su descubrimiento estuvo ligado a esta acción; investigaciones posteriores han demostrado que también actúa como antioxidante, además, se le atribuye actividades tales como inmunomodulador, antiinflamatorio, anticancerígeno, antiviral gripal; aunque debemos tener en cuenta que también existen estudios en los que no se encuentran evidencias de dichas actividades; con la finalidad de aceptar o rechazar las propiedades terapéuticas que se le atribuye a la vitamina C, las investigaciones científicas continúan. En general, podemos decir que el consumo de vitamina C es esencial para mantener una buena salud.

2.2.1 Estabilidad de la Vitamina C

La vitamina C o ácido L-ascórbico es muy susceptible a la oxidación por la temperatura, luz, agua, pH, metales (Cu y Fe). Inicialmente en la oxidación pasa de ascorbato a dehidroascorbato, en una reacción que es reversible, por lo que el dehidroascorbato mantiene en principio el valor como vitamina C. Sin embargo, el dehidroascorbato es mucho menos estable y se degrada con gran facilidad. Los productos de la degradación no tienen actividad como vitamina C. La reacción de oxidación puede ser catalizada por la enzima ascorbato oxidasa, abundante en algunos vegetales. Los productos obtenidos de fuentes naturales (frutas y otros vegetales), conteniendo vitamina C, requieren del uso de estabilizadores que inhiban o prolonguen su tiempo de oxidación.

2.3 Antecedentes de la Investigación

Los estudios de estabilidad de la vitamina C en frutos se han dado principalmente en el caso del camu camu, considerada la fruta con el mayor contenido de vitamina C en el mundo, esta fruta tiene su origen en la Amazonía Peruana.

En el 2002 Ramos, Z. y colaboradores evaluaron los factores que reducen el contenido de vitamina C en la pulpa de camu camu durante el proceso y conservación. Silva, M. y colaboradores, en el 2004 determinaron la estabilidad de la vitamina C en frutos caju-do-cerrado refrigerados y congelados. Nobuyuki, R. et

al, en el 2007 determinaron la estabilidad de vitamina C y antocianinas en néctar de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh), En el 2009. Chang, A. patentó un método para estabilizar la vitamina C en frutos y sus extractos sólidos, líquidos y semisólidos.

2.4 Antioxidantes alimentarios.-

Los antioxidantes alimentarios son un tipo de aditivos que se añaden a los alimentos para que estos no pierdan, con el tiempo, su sabor y color.

Los alimentos, tras cosecharlos o cocinarlos, tienden a oxidarse debido a su contacto con el oxígeno, con el calor o con la luz de sol.

Con los antioxidantes alimentarios también conseguimos que las vitaminas, aminoácidos y otros nutrientes se mantengan más tiempo sin degradarse o perder propiedades. El color también durará más tiempo sin empezar a cambiar.

3. Metodología y Parte experimental

3.1 Muestras

- Jugo del fruto del limón
- EHV (Extracto de hojas de vid).-Extracto secado a partir de un extracto hidroalcohólico obtenido de hojas frescas de la vid. El rendimiento de extracto seco es aproximadamente de 10% del material vegetal de partida.

3.2 Preparación de la muestras

El jugo de limón se divide en 21 muestras de la siguiente manera:

- M1 = Jugo de limón (Blanco)
- M2 = Jugo de limón + 0.1% de EHV
- M3 = Jugo de limón + 0.2% de EHV
- M4 = Jugo de limón + 0.3% de EHV
- M5 = Jugo de limón + 0.4% de EHV
- M6 = Jugo de limón + 0.5% de EHV
- M7 = Jugo de limón + 0.6% de EHV
- M8 = Jugo de limón + 0.7% de EHV
- M9 = Jugo de limón + 0.8% de EHV
- M10 = Jugo de limón + 0.9% de EHV
- M11 = Jugo de limón + 1.0% de EHV
- M12 = Jugo de limón + 1.1% de EHV
- M13 = Jugo de limón + 1.2% de EHV
- M14 = Jugo de limón + 1.3% de EHV
- M15 = Jugo de limón + 1.4% de EHV
- M16 = Jugo de limón + 1.5% de EHV
- M17 = Jugo de limón + 1.6% de EHV
- M18 = Jugo de limón + 1.7% de EHV
- M19 = Jugo de limón + 1.8% de EHV
- M20 = Jugo de limón + 1.9% de EHV
- M21 = Jugo de limón + 2.0% de EHV

Las muestras se conservan en refrigeración durante 8 semanas. Cada 7 días se realizan las medidas cuantitativas de vitamina C y la evaluación de cambios organolépticos, en cada una de las muestras.

3.3 Diseño a utilizar en el estudio

- Deductivo - Experimental – inductivo

3.4 Métodos y técnicas de investigación

- **Deductivo.**- revisión y análisis de la información científica, referente al tema.

- **Experimental.**-

- . Preparación de las muestras
- . Preparación de jugo más antioxidante
- . Medida del contenido de vitamina C
- . Evaluación de cambios organolépticos.

- **Inductivo.**- interpretación y discusión de resultados. Conclusiones.

3.5 Técnicas de experimentales

3.5.1 Determinación cuantitativa de vitamina C por el método iodométrico.

Técnica. -

Preparación del Valorante

1.4 g de Yodo metálico se disuelven en una solución que contiene 3.6 g de IK, en 10 mL de agua destilada, se agrega 3 gotas de HCl y luego se completa a 100 mL en una fiola.

Preparación del estándar

Pesar aproximadamente 50 mg de Vit C USP, agregar 10 mL de agua destilada y 2.5 mL de ácido sulfúrico o fosfórico 2N.

Valoración del estándar

Al estándar preparado se le agregan 0.5 mL de solución de almidón 5%, y se procede a valorar con el valorante hasta el punto final (aparición de color azul, permanente). Anotar los mL de valorante consumidos (mLE)

Preparación de la muestra

Pesar de 2 a 3 mL de la muestra, diluir con 10 mL de agua destilada y 2.5 mL de ácido sulfúrico o fosfórico 2N

Determinación cuantitativa

A la muestra preparada se le agregan 0.5 mL de solución de almidón 5%, y se procede a valorar con el valorante hasta el punto final (aparición de color azul, permanente)

Cálculos

Se aplica la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Vitamina C} = \frac{\text{mLM} \times \text{mg Vit. C} \times 100}{\text{mLE} \times \text{mg M}}$$

Donde:

mL **M** = mL de valorante consumidos en la muestra

mg Vit. C = cantidad de vitamina C estándar en mg.

mL **E** = mL de valorante consumidos en el estándar (Vitamina C)

mg **M** = Cantidad de muestra, en mg.

3.5.2 Medida de características organolépticas.

- . Prueba sensorial del sabor
- . Prueba sensorial del color
- . Prueba sensorial del olor

4. Resultados

Los resultados del análisis cuantitativo de Vitamina C y la evaluación de cambios organolépticos, se muestran en los cuadros siguientes.

4.1 Cuadro 1.- Resultados del análisis de vitamina C en el jugo de limón sin estabilizar.

Días =	0	5	10	15	20
	Vitamina C en mg/100 mL de jugo de limón				
0	43	28	16	9	0

4.2 Cuadro 2.- Resultados de la evaluación de cambios organolépticos en el jugo de limón sin estabilizar.

Días =	0	5	10	15	20
Cambios	Medida de características organolépticas				
sabor	5	1	1	1	1
color	5	4	3	3	3
olor	5	1	1	1	1
5 = óptimo	4 = bueno	3 = regular	2 = malo	1 = muy malo	

4.3 Cuadro 3.- Resultados del análisis de vitamina C en el jugo de limón, utilizando diferentes concentraciones de EHV como antioxidante.

Días =	0	7	14	21	28	35	42	49	56
% de EHV	Vitamina C en mg/100 mL de jugo de limón								
0.1	43	12	0	0	0	0	0	0	0
0.2	43	12	2	0	0	0	0	0	0
0.3	43	14	5	0	0	0	0	0	0
0.4	43	14	6	3	0	0	0	0	0
0.5	43	15	6	3	0	0	0	0	0
0.6	43	18	9	5	0	0	0	0	0
0.7	43	18	8	5	0	0	0	0	0
0.8	43	18	9	6	0	0	0	0	0
0.9	43	20	11	5	0	0	0	0	0
1	43	22	14	8	5	0	0	0	0
1.1	43	26	20	20	18	16	16	14	15
1.2	43	32	27	25	22	19	18	18	17
1.3	43	37	34	33	28	29	24	22	21
1.4	43	43	40	39	39	37	36	32	30
1.5	43	42	41	39	40	39	40	38	36
1.6	43	42	43	43	43	43	43	43	43
1.7	43	43	43	43	43	43	43	43	43
1.8	43	44	43	43	43	43	43	43	43
1.9	43	43	42	42	42	42	42	42	42
2	43	42	44	44	44	44	44	44	44

4.4 Resultados de la evaluación de cambios organolépticos en el jugo de limón, utilizando EHV a diferentes concentraciones

4.4.1 Cuadro 4.1.- Resultados de la evaluación de cambios organolépticos en el jugo de limón, utilizando EHV 0.1 a 0.5 %.

Días =		0	7	14	21	28	35	42	49	56
% de EHV		Medida de características organolépticas								
	sabor	5	1	1	1	1	1	1	1	1
0.1	color	5	5	5	3	3	3	3	2	1
	olor	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	sabor	5	1	1	1	1	1	1	1	1
0.2	color	5	5	5	3	3	3	3	2	1
	olor	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	sabor	5	1	1	1	1	1	1	1	1
0.3	color	5	5	5	3	3	3	3	2	1
	olor	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	sabor	5	1	1	1	1	1	1	1	1
0.4	color	5	5	5	3	3	3	3	2	1
	olor	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	sabor	5	1	1	1	1	1	1	1	1
0.5	color	5	5	5	3	3	3	3	2	2
	olor	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	sabor	5	1	1	1	1	1	1	1	1
5 = óptimo 4 = bueno 3 = regular 2 = malo 1 = muy malo										

4.4.2 Cuadro 4.2.- Resultados de la evaluación de cambios organolépticos en el jugo de limón, utilizando EHV 0.6 a 1.0 %.

Días =		0	7	14	21	28	35	42	49	56
% de EHV		Medida de características organolépticas								
	sabor	5	1	1	1	1	1	1	1	1
0.6	color	5	5	5	5	4	3	3	2	1
	olor	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	sabor	5	1	1	1	1	1	1	1	1
0.7	color	5	5	5	5	4	4	3	2	1
	olor	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	sabor	5	2	1	1	1	1	1	1	1
0.8	color	5	5	5	5	4	4	3	2	1
	olor	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	sabor	5	1	1	1	1	1	1	1	1
0.9	color	5	5	5	5	4	4	3	3	2
	olor	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	sabor	5	2	1	1	1	1	1	1	1
1	color	5	5	5	5	4	4	3	3	2
	olor	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	sabor	5	1	1	1	1	1	1	1	1
5 = óptimo 4 = bueno 3 = regular 2 = malo 1 = muy malo										

4.4.3 Cuadro 4.3.- Resultados de la evaluación de cambios organolépticos en el jugo de limón, utilizando EHV 1.1 a 1.5 %.

Días =		0	7	14	21	28	35	42	49	56
% de EHV		Medida de características organolépticas								
1.1	sabor	5	2	2	2	2	2	2	1	1
	color	5	5	5	5	4	4	3	3	3
	olor	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1.2	sabor	5	3	3	3	3	3	2	2	2
	color	5	5	5	5	4	4	3	3	2
	olor	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1.3	sabor	5	4	3	3	3	3	3	3	2
	color	5	5	5	5	4	4	4	4	3
	olor	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1.4	sabor	5	4	4	4	3	3	3	3	3
	color	5	5	5	5	5	5	4	4	4
	olor	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1.5	sabor	5	5	4	4	4	4	3	3	3
	color	5	5	5	5	4	4	3	3	2
	olor	5	5	5	5	5	5	5	5	5
5 = óptimo 4 = bueno 3 = regular 2 = malo 1 = muy malo										

4.4.4 Cuadro 4.4.- Resultados de la evaluación de cambios organolépticos en el jugo de limón, utilizando EHV 1.6 a 2.0 %.

Días =		0	7	14	21	28	35	42	49	56
% de EHV		Medida de características organolépticas								
1.6	sabor	5	5	4	4	4	4	3	3	3
	color	5	5	5	5	5	5	4	4	4
	olor	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1.7	sabor	5	5	5	4	4	4	3	3	3
	color	5	5	5	5	5	5	4	4	4
	olor	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1.8	sabor	5	5	4	4	4	4	3	3	3
	color	5	5	5	5	5	5	5	4	4
	olor	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1.9	sabor	5	4	4	4	3	3	3	3	3
	color	5	5	5	5	5	5	5	5	4
	olor	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2	sabor	5	5	4	4	4	4	4	4	3
	color	5	5	5	5	5	5	5	5	4
	olor	5	5	5	5	5	5	5	5	5

5. Interpretación y Discusión de resultados

- En la comparación de los resultados mostrados en el cuadro 1, referido a la estabilidad de la Vitamina C en el jugo de limón, mantenido en refrigeración; con el cuadro 3 correspondientes al jugo de limón, tratado con diferentes concentraciones de EHV respectivamente, resulta evidente el efecto de este antioxidante en la estabilidad relativa del contenido de Vitamina C. Las concentraciones óptimas de estabilización en 8 semanas se observa entre 1,6 a 2 % del estabilizador.
- En cuanto a cambios organolépticos, se observa que el color y el olor se mantienen adecuadamente en las concentraciones más bajas y en las concentraciones óptimas estas características organolépticas se mantienen casi inalterables. Sin embargo, el sabor se ve ligeramente afectado cuando transcurre mayor tiempo del estudio.
- Teniendo en cuenta que no se ha evaluado las características de estabilidad de otros componentes del jugo de limón, es de esperar que su descomposición también afecte el sabor del jugo de limón. Dado los resultados positivos de este estudio, es pertinente realizar estudios para estabilizar otros componentes del jugo de limón.
- La evaluación de la estabilidad de la vitamina C, en el presente trabajo, de ha realizado durante 8 semanas (56 días), habiendo determinado las concentraciones más adecuadas del antioxidante, es conveniente realizar estudios de anaquel durante períodos más largo.
- El presente estudio representa un avance importante en lograr estabilizar el jugo de limón.

6. Conclusiones y recomendaciones

Conclusiones

- El uso del antioxidante natural EHV (extracto de hojas de vid) resulta eficiente para estabilizar la vitamina C contenida en el jugo de limón durante 8 semanas.
- Las concentraciones de 1.6 a 2.0 % resultaron las más eficientes para estabilizar la vitamina C contenida en el jugo de limón.
- En cuanto a los cambios organolépticos, el olor y color se mantienen casi inalterables en las concentraciones de 1.6 a 2.0 %, sin embargo en el sabor se nota desmejoramiento de la calidad.
- Menores concentraciones de 1.6 a 2.0 % originan pérdida de vitamina C e impacto negativo en el sabor.

Recomendaciones

- Realizar las evaluaciones de la estabilidad de la vitamina C y de cambios organolépticos, durante períodos más largos.
- Realizar las evaluaciones de la estabilidad de la vitamina C y de cambios organolépticos, con concentraciones mayores de EHV (extracto de hojas de vid).
- Realizar el estudio de estabilidad de otros componentes del jugo de limón.

7. Referencias bibliográficas

1. Acevedo, B.; Montiel, M. y Avanza, J. (2004). Estudio cinético de la degradación de la actividad antioxidante hidrosoluble de jugos cítricos por tratamiento térmico. FACENA Vol. 20, pp. 91-95, 2004.
2. Apestequia, J. A. (2009) Efecto diurético del zumo del fruto del limón (*Citrus limón* L.) en ratas de experimentación. Tesis Magister Farmacología. UNMSM
3. Avelar N, A. y Ayala G, G. (2006) Diseño de un sistema de gestión de calidad basado en la seguridad alimentaria para la Industria de jugos naturales (naranja y limón) y agua de coco. Tesis. Fac. Ing. Química. Universidad de El Salvador.
4. Chávez, R. R.; Plaza, A. P. y Lock de Ugaz, O. (1996) Antioxidantes de origen vegetal. Revista de Química. Vol. X. N1. Junio de 1996
5. Closa, S. J; Rossi, A. L; Salerni, F. (1998) Contenido de vitamina C en jugo de limón fresco y procesado / C vitamin content in fresh and processing lemon juice. Rev. Soc. Argent. Nutr; 9 (1):12-5
6. Coello Frías, V. N. (2015) "Efecto de la adición de Ácido Ascórbico y Butil Hidroxitolueno (BHT) en la oxidación enzimática y rancidez oxidativa de pasta de aguacate (*Persea americana*) variedades Hass y Bacon" UNIV TÉCNICA DE AMBATO. FAC. DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Proyecto de Investigación (Graduación). Ecuador. 2015.
7. Del Río, J. A; Marín, F.R; Benavente, O; Martínez, M; García-Lidón, A; Porras, I. y Ortuño, A. (1999) Caracterización de zumos de *Citrus limón* (var. Fino y Verna) en relación a su contenido en flavonoides, vitamina C y potencial antioxidante. Levante Agrícola, 38: 193-197.
8. Ibáñez, F.C.; Torre, P. e Irigoyen, A. (2003) ADITIVOS ALIMENTARIOS Área de Nutrición y Bromatología Universidad Pública de Navarra
9. Kahl, R.; Kappus, H. (1993) Toxicología de los antioxidantes sintéticos BHA y BHT en comparación con la vitamina E antioxidante natural. Z Lebensm Unters Forsch. Apr. 196(4):329-38.
10. Klinar, S.; Chanllio, J. y Chang, A. (2016) Evaluación del control de la oxidación de la vitamina C en los jugos de los frutos de limón *Citrus limonium* variedad sutil, utilizando los antioxidante para alimentos: BHA (butilhidroxianisol o E-320) y BHT (butilhidroxitolueno o E-321). UNICA - 2016
11. Maeda, Roberto Nobuyuki et al (2007). Estabilidade de ácido ascórbico e antocianinas em néctar de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh) Cienc. Tecnol. Aliment., Campinas, 27(2): 313-316, abr.-jun. 2007
12. Miyake, Y.; Yamamoto, K. y Osawa, T. (1997) Aislamiento de eriocitrin (eryodictiol-7-rutinoside) from lemon fruit (*Citrus limón* BURM. f) y su actividad antioxidante. Food Sci. Tacnol. Int. Tokio, 3, 84-89.
13. Muñoz, A. (2011) Determinación del tiempo de frigo conservación y calidad de frutos de limón mexicano de clones sin espina y sin semilla. Tesis Maestro en Ciencias. Colegio de postgraduados. Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas. México.
14. Padilla, F. et al (2007) Nuevo equipo y proceso de destilación fraccionada en continuo por arrastre con vapor de aceites esenciales del jugo de limón mexicano. e-Gnosis [online] Vol.5, Art.6

15. Patente (2009) Inventors: Artemio Chang Canales Method for stabilizing l-ascorbic acid, liquid extraction preparation, solid extract, and semi-fluid extract
16. Ramos Zuleyka et al (2002). Evaluación de factores de procesamiento y conservación de pulpa de camu-camu que reducen el contenido de vitamina C. Revista Amazónica de Investigación Alimentaria, v.2 no 2 p. 89 - 99 (2002)
17. Rebollo, C.; Hernández, V.; Carrieri, R.; Viera, M.; Salhá, B.; Sansone, S. y Rostani, S. (2005) Vitamina C: una estrategia didáctica polifuncional. Enseñanza de las Ciencias, 23(1), 133–140
18. Rojas, P. (2007) Determinación por hplc de flavanonas en jugos cítricos de variedades cultivadas en Santander. Scientia et Technica Año XIII, No 33
19. Silva, Mara Reis et al (2004). Estabilidade de ácido ascórbico em pseudofrutos de caju-do-cerrado refrigerados e congelados. Pesquisa Agropecuária Tropical, 34 (1): 9-14, 2004
20. Solís, Mery (2006) Determinación de las propiedades fisicoquímicas del limón (Citrus Limus)- Tesis. Fac. Ing Alimentos. Universidad de Ambato. Ecuador
21. Warner C.R.; Brumley W. C.; Daniels, D. H. (1986) Reactions of antioxidants in foods. Food Chem Toxicol. 24(10-11) 1015-1019.

8. Anexo:

Proyecto de investigación.

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

1.- DATOS GENERALES.

1.1 Código:

1.2 Título: Evaluación del control de la oxidación de la vitamina C en los jugos de los frutos de limón *Citrus limonium* variedad sutil, utilizando un antioxidante natural (extracto de hojas de *Vitis vinífera* L).

1.3 Línea de Investigación

CONCYTEC: Área.- Transversales del conocimiento. Sector.- Ciencias básicas. Subsector.- Química. Líneas de acción.- Química de los Productos Naturales.

UNESCO.- Categoría UNESCO.- Química. Clasificación UNESCO.- Química Orgánica.

1.4 Tipo de Investigación: Básica.

1.5 Nivel de la Investigación: Experimental.

1.6 Autores del Proyecto:

Químico Farmacéutica. Magíster. Carmen Silvia Klinar Barbuza. Profesora Principal D.E. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Condición: nombrada.

Médico. Magíster. Jorge Chanllio Lavarello. Profesor Principal T.C. Facultad de Medicina Humana. Condición: nombrado.

Químico Farmacéutico. Artemio Chang Canales. Profesor Cesante de la UNICA. Institución: Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Amazon Ruby SAC.

1.7 Entidades vinculadas al proyecto: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga y Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Amazon Ruby SAC.

1.8 Finalidad de la investigación: Elaborar un artículo científico.

2. ESTRUCTURA.

2.1. Planteamiento del Problema

2.1.1 Descripción de la realidad problemática

En el Perú, el consumo del jugo de limón es muy amplio, principalmente en la elaboración del cebiche y en la preparación del pisco sour. Para el uso del jugo de limón, es necesario obtenerlo del fruto y utilizarlo, casi de inmediato; ya que se oxida muy rápidamente y se alteran sus características fisicoquímicas y organolépticas; por tanto, no es posible conservar el jugo de limón durante un periodo razonable para su utilización en la gastronomía, coctelería, etc. Esto plantea la necesidad de desarrollar procesos para estabilizar el jugo de limón. Debemos entender que la vitamina C, contenida en el jugo de limón, es una sustancia que se oxida con suma facilidad.

Adicional a esta problemática, en el trabajo anterior “Evaluación del control de la oxidación de la vitamina C en los jugos de los frutos de limón *Citrus limonium* variedad sutil, utilizando los antioxidante para alimentos: BHA (butilhidroxianisol o E-320) y BHT (butilhidroxitolueno o E-321)”, se logró determinar la estabilización de la Vitamina C, pero en el sabor del jugo de limón se presenta un impacto negativo.

2.1.2 Planteamiento del Problema

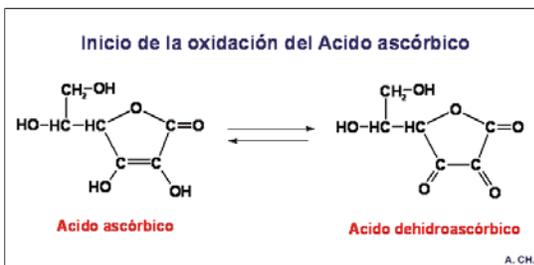
¿Es posible controlar la estabilidad de la vitamina C en el jugo de limón, utilizando antioxidantes naturales y evitar cambios organolépticos, utilizando un antioxidante natural?

2.2. Fundamentos Teóricos de la Investigación

2.2.1 Marco Teórico

Dado la facilidad de la oxidación de la vitamina C, en el jugo de limón la oxidación de este compuesto es lo que origina los rápidos cambios organolépticos (cambio del sabor principalmente), en consecuencia, la estabilización de la vitamina C presente en el jugo de limón, permitirá estabilizar dicho jugo.

La vitamina C o ácido L-ascórbico es muy susceptible a la oxidación por la temperatura, luz, agua, pH, metales (Cu y Fe). Inicialmente en la oxidación pasa de ascorbato a dehidroascorbato, en una reacción que es reversible, por lo que el



dehidroascorbato mantiene en principio el valor como vitamina C. Sin embargo, el dehidroascorbato es mucho menos estable y se degrada con gran facilidad. Los productos de la degradación no tienen actividad como vitamina

C. La reacción de oxidación puede ser catalizada por la enzima ascorbato oxidasa, abundante en algunos vegetales.

Los productos obtenidos de fuentes naturales (frutas y otros vegetales), conteniendo vitamina C, requieren del uso de estabilizadores que inhiban o prolonguen su tiempo de oxidación.

2.2.2 Antecedentes de la Investigación

Los estudios de estabilidad de la vitamina C en frutos se han dado principalmente en el caso del camu camu, considerada la fruta con el mayor contenido de vitamina C en el mundo, esta fruta tiene su origen en la Amazonía Peruana.

En el 2002 Ramos, Z. y colaboradores evaluaron los factores que reducen el contenido de vitamina C en la pulpa de camu camu durante el proceso y conservación. Silva, M. y colaboradores, en el 2004 determinaron la estabilidad de la vitamina C en frutos caju-do-cerrado refrigerados y congelados. Nobuyuki, R. et al, en el 2007 determinaron la estabilidad de vitamina C y antocianinas en néctar de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh), En el 2009. Chang, A. patentó un método para estabilizar la vitamina C en frutos y sus extractos sólidos, líquidos y semisólidos.

En el 2016 Klinar, Chanllo y Chang evaluaron el control de la oxidación de la vitamina C en los jugos de los frutos de limón *Citrus limonium* variedad sutil, utilizando los antioxidante para alimentos: BHA (butilhidroxianisol o E-320) y BHT (butilhidroxitolueno o E-321)

2.2.3 Marco Conceptual.

Definiciones de términos básicos del estudio

Antioxidantes naturales.-

Los antioxidantes naturales son un tipo de aditivos que, entre otros usos, se añaden a los alimentos para que estos no pierdan, con el tiempo, su sabor y color.

Los antioxidantes naturales son compuestos que se obtienen de la naturaleza, principalmente del reino vegetal. Estos compuestos corresponden principalmente a los denominados “polifenoles” representados por los distintos tipos de flavonoides, taninos y ácidos orgánicos fenólicos. Es frecuente el uso de extractos vegetales con alto contenido de “polifenoles”, como antioxidantes.

Los alimentos, tras cosecharlos o cocinarlos, tienden a oxidarse debido a su contacto con el oxígeno, con el calor o con la luz de sol.

Con los antioxidantes naturales también conseguimos que las vitaminas, aminoácidos y otros nutrientes se mantengan más tiempo sin degradarse o perder propiedades. El color también durará más tiempo sin empezar a cambiar.

Análisis sensorial u organoléptico.-

En la industria alimentaria se realiza el Análisis discriminativo para saber si hay diferencias entre dos productos, o para evaluar el efecto de un cambio en el proceso sobre las propiedades organolépticas del alimento

Citrus limonium (limón, limonero).

Árbol, cultivado. Hojas grandes, los brotes tienen espinas. Las flores en racimo, con pétalos blancos en el haz y purpúreo en el envés. Frutos lisos o ligeramente rugosos de color amarillo. Semillas pequeñas y escasas.

Vitamina C

La vitamina C es una vitamina hidrosoluble. Es necesaria para el crecimiento y desarrollo normales. Las vitaminas hidrosolubles se disuelven en agua. Las cantidades sobrantes de la vitamina salen del cuerpo a través de la orina. Eso quiere decir que la persona necesita un suministro constante de tales vitaminas en la dieta.

El organismo de los humanos no es capaz de producir Vitamina C (casi todos los organismos animales y vegetales, si lo hacen) por lo que debemos ingerirla desde fuentes externas. La vitamina C o Ácido ascórbico, es también llamada la Vitamina antiescorbútica debido a que su descubrimiento estuvo ligado a esta acción; investigaciones posteriores han demostrado que también actúa como antioxidante, además, se le atribuye actividades tales como inmunomodulador, antiinflamatorio, anticancerígeno, antioxidante, antiviral gripal; aunque debemos tener en cuenta que también existen estudios en los que no se encuentran evidencias de dichas actividades; con la finalidad de aceptar o rechazar las propiedades terapéuticas que se le atribuye a la vitamina C, las investigaciones científicas continúan. En general, podemos decir que el consumo de vitamina C es esencial para mantener una buena salud.

Estabilidad de la Vitamina C

La vitamina C o ácido L-ascórbico es muy susceptible a la oxidación por la temperatura, luz, agua, pH, metales (Cu y Fe). Inicialmente en la oxidación pasa de ascorbato a dehidroascorbato, en una reacción que es reversible, por lo que el dehidroascorbato mantiene en principio el valor como vitamina C. Sin embargo, el dehidroascorbato es mucho menos estable y se degrada con gran facilidad. Los productos de la degradación no tienen actividad como vitamina C. La reacción de oxidación puede ser catalizada por la enzima ascorbato oxidasa, abundante en algunos vegetales. Los productos obtenidos de fuentes naturales (frutas y otros vegetales), conteniendo vitamina C, requieren del uso de estabilizadores que inhiban o prolonguen su tiempo de oxidación.

2.3. Finalidad y Objetivos de la Investigación

2.3.1 Finalidad e importancia

La finalidad del presente trabajo es evaluar la acción de los antioxidantes naturales en el control de la oxidación de la vitamina C presente en el jugo de limón, lo que permitiría la conservación de dicho jugo por un tiempo prolongado, manteniendo sus características fisicoquímicas y organolépticas. De esta manera se obtiene un producto que facilita, promueve y amplía su uso.

En el presente estudio se utilizará como antioxidante natural, un extracto hidroalcohólico de las hojas de vid, lo que también contribuye a la utilización integral de un recurso vegetal de gran importancia en Ica.

2.3.2 Objetivos

- Determinar la acción del extracto de hojas de *Vitis vinífera* L., como antioxidante natural, que permita controlar la oxidación de la vitamina C presente en el jugo de limón, y evitar los cambios en las características organolépticas (sabor, color y olor).
- Determinar la concentración óptima del extracto de hojas de *Vitis vinífera* L., como antioxidante natural.

2.4. Hipótesis y Variables

2.4.1 Hipótesis

El extracto de hojas de *Vitis vinífera* L., como antioxidante natural, es capaz de controlar la oxidación de la vitamina C en el jugo de limón y mantener inalterables las características organolépticas.

2.4.2 Variables e Indicadores.

Variable independiente.- jugo de limón

Variables dependientes.-

- Oxidación de la vitamina C
- Características organolépticas (sabor, color y olor)

Indicadores.- contenido de vitamina C, sabor, color y olor

2.5. Metodología

2.5.1 Muestras

- Jugo del fruto del limón
- Extracto de hojas de la vid *Vitis vinífera* L.

2.5.2 Diseño a utilizar en el estudio

- Deductivo - Experimental – inductivo

2.5.3 Métodos y técnicas de investigación

- **Deductivo.**- revisión y análisis de la información científica, referente al tema.
- **Experimental.**- preparación de jugo más antioxidante, medida del contenido de vitamina C, evaluación de cambios organolépticos.
- **Inductivo.**- interpretación y discusión de resultados. Conclusiones.

2.5.4 Técnicas de Recolección de Datos

- Revisión Bibliográfica
- Medida de vitamina C.
- Medida de características organolépticas.

3. ADMINISTRACIÓN DEL PROYECTO

3.1. Programación de Actividades

- Duración del proyecto: 12 Meses
- Fecha de inicio: noviembre 2016
- Fecha de Culminación: octubre 2017

-Etapas que comprende el proyecto:

- a.- Revisión Bibliográfica (durante toda la ejecución del Proyecto)
- b.- Preparación de muestras (1 mes)
- c.- Evaluación del antioxidante 0.1 a 0.5 %, durante un periodo de 8 semanas (2 meses)
- d.- Análisis e interpretación de los resultados. (15 días)
- e.- Evaluación del antioxidante a las concentraciones de 0.6 a 1 %, durante un periodo de 8 semanas (2 meses)
- f.- Análisis e interpretación de los resultados. (15 días)
- g.- Evaluación del antioxidante a las concentraciones de 1.1 a 1.5 %, durante un periodo de 8 semanas (2 meses)
- h.- Evaluación del antioxidante a las concentraciones de 1.6 a 2.0 %, durante un periodo de 8 semanas (2 meses)
- i.- Análisis e interpretación de los resultados. (1 mes)
- i.- Preparación del informe final. (1 mes)

CRONOGRAMA	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SET	OCT
Revisión Bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Preparación de muestras	X											
Evaluación del antioxidante (c y e)		X	X	X	X							
Análisis e Interpretación de resultados (d y f)						X						
Evaluación del antioxidante (g y h)							X	X	X	X		
Análisis e Interpretación de resultados											X	
Preparación informe final												X

3.2. Presupuesto

Descripción del gasto	Monto en nuevos soles
Transportación y viáticos para la recolección de información	S/.1 400.00
Adquisición de las muestras.	S/. 100.00
Reactivos y solventes	S/.4 500.00
Reactivos para extracto antioxidante	S/.4 000.00
Material de escritorio, impresión y otros	S/.1 500.00
Servicios	S/.1 500.00
TOTAL =	S/ 13 000.00

4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Solís, Mery (2006) Determinación de las propiedades fisicoquímicas del limón (*Citrus Limus*)- Tesis. Fac. Ing Alimentos. Universidad de Ambato. Ecuador
2. Avelar N, A. y Ayala G, G. (2006) Diseño de un sistema de gestión de calidad basado en la seguridad alimentaria para la Industria de jugos naturales (naranja y limón) y agua de coco. Tesis. Fac. Ing. Química. Universidad de El Salvador.
3. Padilla, F. et al (2007) Nuevo equipo y proceso de destilación fraccionada en continuo por arrastre con vapor de aceites esenciales del jugo de limón mexicano. e-Gnosis [online] Vol.5, Art.6
4. Rojas, P. (2007) Determinación por HPLC de flavanonas en jugos cítricos de variedades cultivadas en Santander. Scientia et Technica Año XIII, No 33
5. Apesteagua, José Alfonso (2009) Efecto diurético del zumo del fruto del limón (*Citrus limón L.*) en ratas de experimentación. Tesis Magister Farmacología. UNMSM
6. Muñoz, A. (2011) Determinación del tiempo de frigo conservación y calidad de frutos de limón mexicano de clones sin espina y sin semilla. Tesis Maestro en Ciencias. Colegio de postgraduados. Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas. México.
7. Ramos Zuleyka et al (2002). Evaluación de factores de procesamiento y conservación de pulpa de camu-camu que reducen el contenido de vitamina C. Revista Amazónica de Investigación Alimentaria, v.2 no 2 p. 89 - 99 (2002)
8. Silva, Mara Reis et al (2004). Estabilidade de ácido ascórbico em pseudofrutos de caju-do-cerrado refrigerados e congelados. Pesquisa Agropecuária Tropical, 34 (1): 9-14, 2004
9. Maeda, Roberto Nobuyuki et al (2007). Estabilidade de ácido ascórbico e antocianinas em néctar de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh) Cienc. Tecnol. Aliment., Campinas, 27(2): 313-316, abr.-jun. 2007
10. Patente (2009) Inventors: Artemio Chang Canales Method for stabilizing l-ascorbic acid, liquid extraction preparation, solid extract, and semi-fluid extract
11. Klinar, S.; Chanllo, J. y Chang, A. (2016) Evaluación del control de la oxidación de la vitamina C en los jugos de los frutos de limón *Citrus limonium* variedad sutil, utilizando los antioxidante para alimentos: BHA (butilhidroxianisol o E-320) y BHT (butilhidroxitolueno o E-321). En proceso de presentación.