

UNIVERSIDAD DE CUENCA



**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

“CUANTIFICACIÓN DE GLUCOSA, FRUCTOSA Y SACAROSA EN MUESTRAS DE PULPA Y JUGO DE UVILLA (*Physallis peruviana*), TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*) Y MANZANA (*Pyrus malus*) POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADAS DE FOURIER (FTIR)”

*Trabajo de Titulación previo a la obtención del título de
Bioquímico Farmacéutico.*

AUTORES:

Tamara Alexandra Criollo Calle
C.I.0105862528

Mónica Estefanía Cueva Cabrera
C.I.0104159470

DIRECTOR:

Dra. María Elena Cazar Ramírez, PhD.
C.I.0602243800

CUENCA-ECUADOR

2017



RESUMEN

El presente trabajo abarca la cuantificación de glucosa, sacarosa y fructosa en muestras de pulpa y jugo de tres frutas andinas: tomate de árbol (*Solanum betaceum*), uvilla (*Physalis peruviana L.*) y manzana (*Pyrus malus*) utilizando el método de Espectroscopía infrarroja por Transformadas de Fourier (FTIR) en la zona de Infrarrojo medio ($700-4000\text{ cm}^{-1}$).

Para la determinación de los azúcares se desarrollaron curvas de calibración, mediante diluciones seriadas de la solución madre al 20% p/v de glucosa, fructosa y sacarosa de pureza $\geq 99.5\%$. Se prepararon seis patrones en rangos de concentración de 0.5 a 5% p/v y se registraron espectros infrarrojos en modo absorbancia. Una vez obtenido el modelo lineal de calibración se realizó la cuantificación de los azúcares en los frutos de estudio y se procedió a la comparación de los datos con el método de refractometría. Esto permitió validar los resultados de concentración de azúcares para el jugo de los frutos en estudio, mientras que para las muestras de pulpa no se lograron resultados comparables debido a la falta de información sobre los métodos aplicados para lectura en estas muestras por Espectroscopía FTIR.

PALABRAS CLAVE: FTIR; azúcares; jugo; pulpa; infrarrojo medio.



ABSTRACT

The present work covers the quantification of glucose, sucrose and fructose in pulp and juice samples for three Andean fruits: tree tomato or tamarillo (*Solanum betaceum*), uvilla (*Physalis peruviana L.*) and apple (*Pyrus malus*) using Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) in the middle infrared zone ($700\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$).

The quantification of sugars was performed by means of calibration curves, preparing serial dilutions of 20% w/v of glucose, fructose and sucrose of purity $\geq 99.5\%$. Working solutions from 0.5 to 5% w/v were used to acquire infra-red spectra in absorbance mode. Once the linear calibration model was obtained, the sugars were quantified on the samples and the data were compared with the refractometry method. Data comparison allowed us to validate the results of sugar concentration on the juice of the fruits included in this study. However, data for pulp samples were not suitable for validations due to the lack of information on the applied methods for reading these samples by FTIR spectroscopy.

KEYWORDS: FTIR; sugars; juice; pulp; mid-infrared.

**ÍNDICE GENERAL:**

| | |
|---|----|
| INTRODUCCIÓN..... | 15 |
| 1. CONTENIDO TEÓRICO | 16 |
| 1.1. Carbohidratos..... | 16 |
| 1.1.1. Generalidades | 16 |
| 1.1.2. Propiedades de los carbohidratos | 16 |
| 1.1.3. Importancia fisiológica de los carbohidratos | 17 |
| 1.1.4. Clasificación de los carbohidratos..... | 17 |
| 1.2. Cultivos Andinos: Uvilla, tomate de árbol y manzana..... | 24 |
| 1.2.1. Generalidades | 24 |
| 1.2.2. Uvilla (<i>Physalis peruviana</i> L.)..... | 24 |
| 1.2.3. Tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>) | 27 |
| 1.2.4. Manzana (<i>Pyrus malus</i>)..... | 30 |
| 1.3. Métodos empleados para la cuantificación de azúcares..... | 33 |
| 1.3.1. Métodos tradicionales para cuantificación de azúcares en frutas | 33 |
| 1.3.2. Espectroscopía Infrarroja como estrategia en la cuantificación de azúcares en frutas | 34 |
| 1.3.3. Fundamentos de Espectroscopía Infrarroja..... | 35 |
| 1.3.4. Espectrometría infrarroja por Transformadas de Fourier (FTIR) | 36 |
| 2. METODOLOGÍA | 38 |
| 2.1. Obtención de la materia prima..... | 38 |
| 2.2. Muestreo y tamaño de la muestra..... | 38 |
| 2.3. Preparación del jugo y pulpa de las futas..... | 38 |
| 2.4. Elaboración de curvas de calibración..... | 39 |
| 2.4.1. Elaboración de las soluciones estándar | 39 |
| 2.5. Parámetros instrumentales del FTIR..... | 39 |
| 2.5.1. Modelamiento Concentración – Absorbancia | 39 |
| 2.6. Cuantificación de azúcares en las muestras..... | 40 |
| 2.7. Análisis estadístico de datos..... | 40 |



| | | |
|------|--|----|
| 2.8. | Determinación del índice de refracción..... | 40 |
| 2.9. | Determinación de la densidad en el jugo de las frutas..... | 40 |
| 3. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 41 |
| 3.1. | Curvas de calibración de azúcares por FTIR..... | 41 |
| 3.2. | Cuantificación de azúcares en pulpa y jugo de los frutos en estudio..... | 43 |
| | CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | 48 |
| | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 49 |



ÍNDICE DE FIGURAS:

Figura 1: Síntesis de los carbohidratos 16

Figura 2: Estructura del gliceraldehído y dihidroxiacetona..... 18

Figura 3: Proyección de Fisher de la glucosa..... 19

Figura 4: Formulación de hemiacetales y hemicetales (a) de un aldehído; (b) de una cetona 20

Figura 5: Representación de Haworth de la β -D fructosa..... 20

Figura 6: Furano y pirano..... 21

Figura 7: Formación del enlace glucosídico 22

Figura 8: Fórmula de la sacarosa..... 23

Figura 9: Esquema de un espectrómetro de FTIR..... 37

Figura 10: Curva de calibración para la sacarosa obtenida del espectro FTIR de las soluciones estándares..... 41

Figura 11: Curva de calibración para la fructosa obtenida del espectro FTIR de las soluciones estándares..... 42

Figura 12: Curva de calibración para la glucosa obtenida del espectro FTIR de las soluciones estándares..... 42

Figura 13: Espectros de las muestras de jugo de los frutos en estudio, registrados en modo absorbancia..... 43

Figura 14: Espectros de las muestras de pulpa de los frutos en estudio, registrados en modo absorbancia..... 44

**ÍNDICE DE TABLAS:**

| | |
|--|----|
| Tabla 1: Clasificación taxonómica de la uvilla. | 24 |
| Tabla 2: Variedades o ecotipos de la uvilla. | 25 |
| Tabla 3: Composición físico-química de la uvilla en 100 g de fruta fresca. | 26 |
| Tabla 4: Clasificación taxonómica del tomate de árbol. | 27 |
| Tabla 5: Variedades o ecotipos del tomate de árbol. | 28 |
| Tabla 6: Composición del tomate de árbol por cada 100 g de porción comestible. | 29 |
| Tabla 7: Clasificación taxonómica de la manzana. | 30 |
| Tabla 8: Variedades o ecotipos de la manzana. | 31 |
| Tabla 9: Composición química por cada 100 g de manzana. | 32 |
| Tabla 10: Fundamento, ventajas y desventajas de las técnicas analíticas tradicionales empleadas en la cuantificación de azúcares en frutas. | 34 |
| Tabla 11: Ventajas y desventajas de la aplicación de la espectroscopia infrarroja en cuantificación de azúcares en frutas. | 34 |
| Tabla 12: Regiones del espectro infrarrojo. | 36 |
| Tabla 13: Coeficiente de correlación de las curvas de calibración. | 43 |
| Tabla 14: Estadísticos descriptivos de las concentraciones de azúcares en jugo y pulpa de manzana (<i>Pyrus malus</i>). | 45 |
| Tabla 15: Estadísticos descriptivos de las concentraciones de azúcares en jugo y pulpa de tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i>). | 45 |
| Tabla 16: Estadísticos descriptivos de las concentraciones de azúcares en jugo y pulpa de uvilla (<i>Physalis peruviana L.</i>). | 45 |
| Tabla 17: Datos obtenidos de azúcares totales por FTIR (%p/v) y refractometría de los frutos en estudio. | 47 |
| Tabla 18: Datos obtenidos de azúcares totales por FTIR (%p/p) y refractometría de los frutos en estudio. | 47 |



CLAÚSULAS DE DERECHO DE AUTOR



Universidad de Cuenca
Clausula de derechos de autor

Yo, Tamara Alexandra Criollo Calle, autora de la tesis "CUANTIFICACIÓN DE GLUCOSA, FRUCTOSA Y SACAROSA EN MUESTRAS DE PULPA Y JUGO DE UVILLA (*Physalis peruviana*), TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*) Y MANZANA (*Pyrus malus*) POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADAS DE FOURIER (FTIR)", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímica Farmacéutica. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autora.

Cuenca, 03 de Abril del 2017.

Tamara Alexandra Criollo Calle

C.I: 0105862528



CLAÚSULAS DE DERECHO DE AUTOR



Universidad de Cuenca
Clausula de derechos de autor

Yo, Mónica Estefanía Cueva Cabrera, autora de la tesis "CUANTIFICACIÓN DE GLUCOSA, FRUCTOSA Y SACAROSA EN MUESTRAS DE PULPA Y JUGO DE UVILLA (*Physalis peruviana*), TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*) Y MANZANA (*Pyrus malus*) POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADAS DE FOURIER (FTIR)", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímica Farmacéutica. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autora.

Cuenca, 03 de Abril del 2017.

Mónica Estefanía Cueva Cabrera

C.I: 0104159470



CLAÚSULAS DE PROPIEDAD INTELECTUAL



Universidad de Cuenca
Clausula de propiedad intelectual

Yo, Tamara Alexandra Criollo Calle, autora de la tesis "CUANTIFICACIÓN DE GLUCOSA, FRUCTOSA Y SACAROSA EN MUESTRAS DE PULPA Y JUGO DE UVILLA (*Physalis peruviana*), TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*) Y MANZANA (*Pyrus malus*) POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADAS DE FOURIER (FTIR)", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 03 de Abril del 2017.



Tamara Alexandra Criollo Calle

C.I.: 0105862528



CLAÚSULAS DE PROPIEDAD INTELECTUAL



Universidad de Cuenca
Clausula de propiedad intelectual

Yo, Mónica Estefanía Cueva Cabrera, autora de la tesis "CUANTIFICACIÓN DE GLUCOSA, FRUCTOSA Y SACAROSA EN MUESTRAS DE PULPA Y JUGO DE UVILLA (*Physalis peruviana*), TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*) Y MANZANA (*Pyrus malus*) POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA POR TRANSFORMADAS DE FOURIER (FTIR)", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 03 de Abril del 2017.

Mónica Estefanía Cueva Cabrera

C.I: 0104159470



DEDICATORIA

Esta tesis va dedicada primeramente a Dios quien me ha iluminado, me ha brindado la vida y me ha brindado la salud necesaria para seguir en el desarrollo de este trabajo, luego a mis queridos padres que son los seres a quien amo brindándome su apoyo siempre. Después a mis hermanos quienes juntos crecimos y a mis sobrinos que son mi razón de vivir dándome siempre una sonrisa y alegrándome la vida.

A mi compañera y amiga de tesis que nunca nos dimos por vencidas. Por ultimo dedico a la memoria de mis bis abuelitos Teolinda Jiménez y Luis Calle, en especial a mi bis abuelita que fue como mi madre.

Tamara Criollo Calle



DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Dios que ha guiado mi vida por la senda del bien y que me ha dado las fuerzas para seguir adelante. A mis abnegados padres quienes con mucho sacrificio han contribuido a la consecución de la meta que me propuse, es a ellos a quienes debo cada triunfo que he conseguido a lo largo de mi vida.

A mi hermano, que siempre ha estado junto a mí, por su apoyo incondicional en todo lo necesario para cumplir mis objetivos.

Estefanía Cueva



AGRADECIMIENTOS

Dejamos constancia de nuestro sincero agradecimiento a nuestra Directora de Tesis Dra. María Elena Cazar Ramírez, PhD, por su invaluable ayuda y orientación brindada para la realización de este trabajo.

Tamara Criollo

Estefanía Cueva



INTRODUCCIÓN

La Sierra Sur Ecuatoriana posee características climáticas y geográficas que generan un ambiente propicio para el desarrollo de frutales, los cuales tienen el potencial de convertirse en cultivos de importancia económica. La información referente a la composición de estos frutos permitirá evaluar su potencial para futuros desarrollos de productos y la optimización de sus condiciones de cultivo. El contenido de azúcares en frutos es un parámetro importante para establecer el grado de madurez y el momento óptimo para su recolección; así como también el potencial como materia prima para el desarrollo de jugos, conservas, mermeladas, etc.

Los métodos tradicionales que son utilizados para determinar el contenido de azúcar en frutas pueden presentar desventajas o inconvenientes (Ríos Corripio, 2010). Por esta razón, la Espectroscopía Infrarroja por Transformadas de Fourier (FTIR) se ha convertido en una técnica alternativa para el análisis de carbohidratos en muestras de alimentos, siendo efectiva tanto por su costo y por ser potencialmente más rápida que los métodos tradicionales. La espectroscopía FTIR puede brindar información sobre las proporciones de los tres principales carbohidratos: glucosa, fructosa y sacarosa (Leopold, Leopold, Diehl, & Socaciu, 2011).

El objetivo principal del presente trabajo fue cuantificar glucosa, fructosa y sacarosa en muestras de pulpa y jugo de tres frutas andinas: uvilla, tomate de árbol y manzana por Espectroscopía Infrarroja por Transformadas de Fourier (FTIR).

Los objetivos específicos incluyen elaborar curvas de calibración para la cuantificación de glucosa, fructosa y sacarosa de la pulpa y jugo de tres frutas presentes en la Sierra Sur Ecuatoriana utilizando espectroscopía FTIR. Además, validar la calidad de los modelos obtenidos por herramientas estadísticas.

La información obtenida permite ampliar el conocimiento sobre las características nutricionales y funcionales de frutos de nuestra región, y constituye un método alternativo para monitorear carbohidratos en jugos de frutas.



1. CONTENIDO TEÓRICO

1.1. Carbohidratos

1.1.1. Generalidades

Los carbohidratos, llamados también glúcidos o glícidos, son biomoléculas compuestas por carbono, hidrógeno y oxígeno. La fórmula general $C_n(H_2O)_n$ significa que hay una molécula de agua por cada átomo de carbono, por lo cual se denominan hidratos de carbono o carbohidratos (Pacheco Leal, 2004). Son componentes esenciales de todos los organismos vivos y constituyen la clase más abundante de las moléculas biológicas (Voet, Voet, & Pratt, 2007). Su función principal es otorgar energía inmediata al cuerpo humano (4 kcal/g) a través de la formación de glucosa (Castro Quirós, 2005).

Los carbohidratos son producto de la fotosíntesis, se forman al reaccionar dióxido de carbono con agua utilizando como catalizador la clorofila. La reacción se muestra en la Figura 1 (Voet & Voet, 2004).



Figura 1: Síntesis de los carbohidratos. Fuente (Voet & Voet, 2004)

1.1.2. Propiedades de los carbohidratos

- Solubilidad:** La solubilidad depende de los grupos hidroxilos, con los que la molécula de azúcar interacciona con el agua u otras moléculas. Los monosacáridos y disacáridos poseen gran solubilidad en agua, menor solubilidad en alcohol y son insolubles en solventes orgánicos. El elevado peso molecular de los polisacáridos disminuye su solubilidad. Los polisacáridos son solubles en agua e insolubles en alcoholes acuosos (Rivera Rodríguez, 2008) (Bello Gutiérrez, 2000).
- Cristalización y estado vítreo:** Los azúcares tienen la capacidad de formar cristales y también pueden tener un estado amorfo de sobresaturación con alta viscosidad y rigidez (Rivera Rodríguez, 2008).
- Poder edulcorante:** Es una propiedad organoléptica que depende de la estructura, concentración y temperatura (Rivera Rodríguez, 2008).



- d) *Poder reductor*: Los monosacáridos y disacáridos poseen un poder reductor, este poder reductor se debe a los átomos de carbono carbonílicos. Por tanto, cuando dos monosacáridos se unen mediante un enlace glucosídico monocarbonílico el disacárido resultante tendrá poder reductor, ya que tiene un carbono carbonílico libre. En cambio, si el enlace es dicarbonílico el disacárido al tener sus dos carbonos carbonílicos en el enlace, pierde el poder reductor (Rivera Rodríguez, 2008).
- e) *Índice de refracción*: Cuando un rayo de luz incide en la interfase entre dos medios transparentes, parte de la energía luminosa se transmite y parte se refleja. Esta propiedad es favorable para determinar la concentración de azúcares (Bruce, 2007).

1.1.3. Importancia fisiológica de los carbohidratos

Los carbohidratos son la principal fuente de energía en el cuerpo. La producción de energía a partir de los carbohidratos es de 4 kcal/g. La energía se almacena en forma de glucógeno en los músculos y en el hígado. También forman parte de moléculas complejas como: glicolípidos, glicoproteínas, ácidos nucleicos, nucleótidos y glicosfingolípidos (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 2000).

Los carbohidratos indigeribles como celulosa, lignina, agar y gomas son importantes en la dieta pues constituyen parte de la fibra de los alimentos. Además forman parte de la pared celular de muchos organismos (Arias Acuña, 2006).

1.1.4. Clasificación de los carbohidratos

Los carbohidratos se clasifican en:

Monosacáridos: son los azúcares que no se hidrolizan a otros más simples. Ejemplo: glucosa

Oligosacáridos: están formados por dos o más monosacáridos (usualmente de 2 a 10) unidos por un enlace glucosídico. Ejemplo: sacarosa

Polisacáridos: macromoléculas que se forman por un gran número de monosacáridos. Ejemplo: almidón (Grajales Muñiz, 2005).



1.1.4.1. Monosacáridos

Los azúcares sencillos, los monosacáridos, son sólidos incoloros y cristalinos, que se disuelven fácilmente en agua y son insolubles en disolventes no polares (Mckee & Mckee, 2011).

Para clasificar los monosacáridos se debe conocer el número de átomos de carbono en la molécula y además, si la molécula es un aldehído o una cetona. Los monosacáridos son aldosas o cetosas. Una aldosa es un monosacárido que contiene un grupo aldehído, y una cetosa contiene un grupo cetona (Voet, Voet, & Pratt, 2007). Los monosacáridos más pequeños, los que tienen tres átomos de carbono, son triosas. Los que tienen cuatro, cinco, seis, siete, etc. átomos de carbono son, respectivamente, tetrosas, pentosas, hexosas, heptosas, etc (Voet & Voet, 2004). La Figura 2, muestra dos triosas: una aldosa y una cetosa.

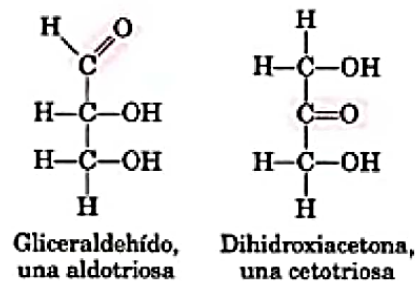


Figura 2: Estructura del gliceraldehído y dihidroxiacetona. Fuente (Nelson & Cox, 2006).

En todas las formas de cadena abierta, uno de los átomos de carbono está unido a un átomo de oxígeno por un doble enlace, formando un grupo carbonilo; cada uno de los demás átomos de carbono tiene un grupo hidroxilo. En las aldosas, el grupo carbonilo se encuentra en uno de los extremos de la cadena formando un aldehído (-CHO) y en las cetosas el grupo carbonilo (C=O) se encuentra en uno de los átomos de carbono de la parte interna de la cadena carbonada (Nelson & Cox, 2006).

1.1.4.1.1. Actividad óptica y estereoisomería de los monosacáridos

Todos los carbohidratos poseen átomos de carbono asimétrico o quiral. Un carbono asimétrico es aquél que está unido a cuatro átomos o grupos diferentes. La presencia de carbono quiral en los monosacáridos les confiere la propiedad conocida como actividad



óptica, que consiste en la desviación del plano de luz polarizada cuando ésta atraviesa una solución de carbohidrato (Pacheco Leal, 2004).

Los estereoisómeros son isómeros con la misma fórmula molecular pero diferente localización de sus átomos en el espacio. En general, una molécula con n centros quirales puede tener 2^n estereoisómeros (Mckee & Mckee, 2011). El gliceraldehído tiene un centro quiral, por tanto $2^1 = 2$ estereoisómeros, que se denominan isómeros ópticos. Un isómero desvía el plano de luz polarizada a la derecha llamándose isómero dextrorrotatorio o dextrógiro (+) y el otro que la desvía a la izquierda es un isómero levorrotatorio o levógiro (-) (Pacheco Leal, 2004).

Una clase de estereoisómeros son los enantiómeros. Estos son estereoisómeros cuyas imágenes especulares no se pueden superponer entre sí (Vasudevan & Sreekumari, 2011). Cuando el grupo hidroxilo del penúltimo átomo de carbono se encuentra a la derecha en la proyección lineal se utiliza la denominación D y cuando se encuentra a la izquierda se utiliza la denominación L. Estas letras no significan la dirección de la rotación óptica, sino la configuración del hidroxilo del penúltimo átomo de carbono respecto del último (Pacheco Leal, 2004) (Vasudevan & Sreekumari, 2011).

1.1.4.1.2. Estructura y configuración de los monosacáridos

Emil Fischer fue el primero en determinar la estructura lineal de la glucosa, razón por la cual se conoce como proyección de Fisher. En la Figura 3 se presenta la proyección de Fisher de la glucosa (Pacheco Leal, 2004).

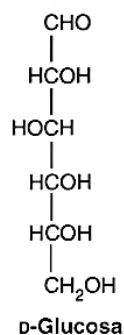


Figura 3: Proyección de Fisher de la glucosa. Fuente (Pacheco Leal, 2004).



Los monosacáridos que contienen cuatro o más átomos de carbono en su cadena suelen encontrarse en disolución acuosa en forma de estructuras cíclicas, en las que el grupo carbonilo ha formado un enlace covalente con el oxígeno de un grupo hidroxilo de la misma cadena. La Figura 4 muestra la formación de hemiacetales y hemiacetales, como resultado de una reacción reversible entre los alcoholes y los aldehídos o las cetonas, respectivamente (Nelson & Cox, 2006) (Arias Acuña, 2006).

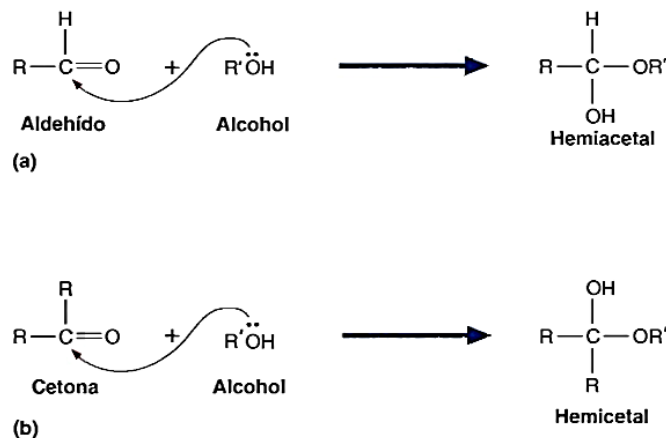


Figura 4: Formulación de hemiacetales y hemiacetales (a) de un aldehído; (b) de una cetona. Fuente (Nelson & Cox, 2006).

Al producirse la ciclación, el carbono carbonilo se transforma en un nuevo centro quiral y por tanto pueden existir dos formas estereoisoméricas designadas como β , con el hidroxilo por encima del anillo (hacia arriba); y α con el hidroxilo por debajo del anillo (hacia abajo). Estas estructuras cíclicas son llamadas proyecciones de Haworth y se encuentran ilustradas en la Figura 5 (Mckee & Mckee, 2011).

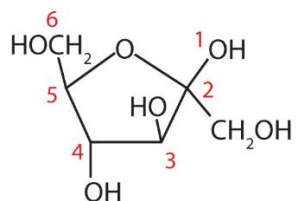


Figura 5: Representación de Haworth de la β -D fructosa. Fuente (Kennepohl, Farmer, & Reusch, 2015).



Un azúcar con un anillo de cinco átomos de carbono se denomina furanosa debido a su semejanza estructural con el furano (Fig. 6). Por ejemplo, la forma cíclica de la fructosa se denomina fructofuranosa. De modo similar, los azúcares con anillos de seis átomos de carbono se denominan piranosas por el pirano (Fig. 6). La glucosa, en la forma piranosa, se denomina glucopiranosa (Mckee & Mckee, 2011).

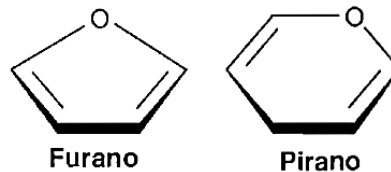


Figura 6: Furano y pirano. Fuente (Nelson & Cox, 2006).

1.1.4.1.3. Clasificación de los monosacáridos

Según el número de átomos de carbono que poseen, los monosacáridos se clasifican en: triosas, tetrasas, pentosas, hexosas, etc.; que contienen tres, cuatro, cinco, seis átomos de carbono respectivamente (Voet, Voet, & Pratt, 2007).

Los monosacáridos de importancia primordial para este trabajo son las hexosas como la glucosa y fructosa.

Glucosa: La D-glucosa también llamada dextrosa, es el carbohidrato más importante para el organismo, ya que es fuente de energía y principal combustible de las células. En los animales, la glucosa es la fuente de energía preferida de las células cerebrales y de las células que tienen pocas mitocondrias o que carecen de ellas, como los eritrocitos (Mckee & Mckee, 2011). La glucosa se encuentra en la miel y algunas frutas. Los disacáridos comunes y muchos polisacáridos que se encuentran naturalmente (almidón, glicógeno y celulosa) producen glucosa al hidrolizarse (Voet, Voet, & Pratt, 2007).

Fructosa: La D-fructosa, originalmente denominada levulosa, suele llamarse azúcar de la fruta por su contenido elevado en los frutos. Se encuentra también en algunos vegetales y en la miel. La fructosa es un miembro importante de la familia de azúcares cetosas. Por gramo, la fructosa es dos veces más dulce que la sacarosa. Por esta razón, la fructosa se utiliza a menudo como agente edulcorante en los productos alimenticios procesados (Mckee & Mckee, 2011).

1.1.4.2. Oligosacáridos

Los oligosacáridos son polímeros de monosacáridos, los más abundantes son los disacáridos. Los disacáridos se forman por la unión de dos monosacáridos mediante un enlace glucosídico (Vasudevan & Sreekumari, 2011). El enlace glucosídico se forma entre el átomo de carbono anomérico o C1 de uno de los monosacáridos con el grupo hidroxilo de otro monosacárido (Voet, Voet, & Pratt, 2007). La formación del enlace glucosídico se encuentra ilustrado en la Figura 7.

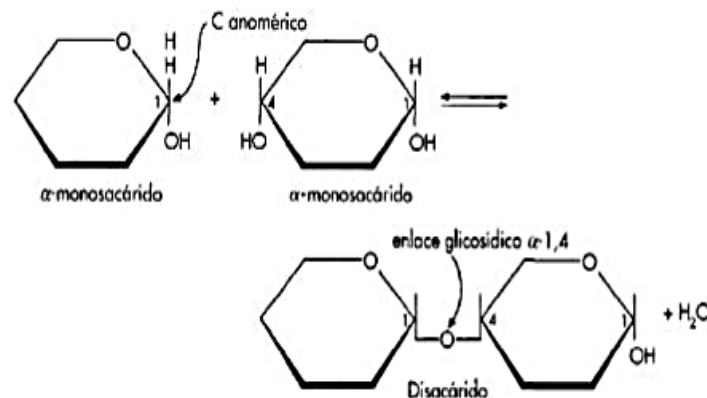


Figura 7: Formación del enlace glucosídico. Fuente (Feduchi Canosa, 2014).

Los disacáridos más importantes son la maltosa, lactosa y sacarosa; la hidrólisis de éstos tres produce diferentes combinaciones de monosacáridos (Arias Acuña, 2006).

Maltosa → glucosa+ glucosa

Lactosa → glucosa+ galactosa

Sacarosa → glucosa+ fructosa

1.1.4.2.1. Sacarosa

Denominada también azúcar de mesa, azúcar de remolacha o azúcar de caña. Está formada por la unión de una glucosa y fructosa (Feduchi Canosa, 2014). Al contrario que la maltosa y la lactosa, la sacarosa no contiene ningún carbono anomérico libre, debido a que los dos carbonos anoméricos se encuentran formando el enlace glucosídico. Por tanto, la sacarosa es un azúcar no reductor (Nelson & Cox, 2006). En la Figura 8 se puede observar la fórmula de la sacarosa.

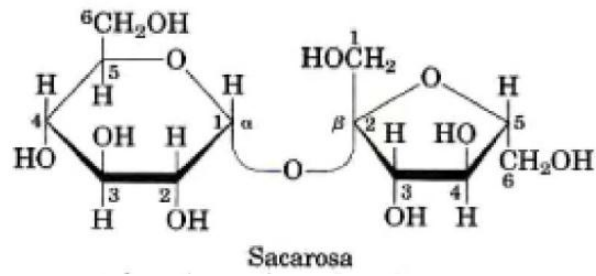


Figura 8: Fórmula de la sacarosa. Fuente (Nelson & Cox, 2006).



1.2. Cultivos Andinos: Uvilla, tomate de árbol y manzana

1.2.1. Generalidades

Los cultivos andinos tienen una gran importancia económica, social, ecológica y nutricional en el Ecuador y en el resto de países atravesados por la cordillera de los Andes. Estos alimentos son importantes para las sociedades andinas por su gran potencial de comercialización en el mercado nacional e internacional (Peralta, Espinoza, & Vásquez, 2006).

Las frutas andinas que van a ser descritas son: uvilla (*Physalis peruviana*), tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y manzana (*Pyrus malus*).

1.2.2. Uvilla (*Physalis peruviana* L.)

1.2.2.1. Descripción botánica

Es un árbol de 1 a 1.5 m de altura. Es una planta perenne, herbácea, arbustiva y ramificada, crece en climas fríos y templados (Brito, 2002).

El fruto es una baya carnosa y jugosa en forma de globo u ovoide, de diámetro de 2 cm aproximadamente y un peso entre 4 a 10 gramos. Es de color naranja-amarillo, con piel lisa y brillante. El sabor agridulce del fruto está dado por los azúcares, ácidos orgánicos y compuestos volátiles, principalmente hidroxíesteres. Cuando el fruto cambia de verde a naranja el contenido de azúcares se eleva, en especial la sacarosa, y la concentración de ácidos orgánicos disminuye, siendo el predominante el ácido cítrico. La pulpa tiene un sabor azucarado y contiene entre 100 - 300 semillas pequeñas de forma lenticular (Brito, 2002) (Fischer, 2005).

1.2.2.2. Clasificación taxonómica

| | |
|--------------------|------------------------------|
| Reino: | Vegetal |
| Tipo: | Fanerógamas |
| Clase: | Dicotiledónea |
| Subclase: | Metaclamidea |
| Orden: | Tubiflora |
| Familia: | Solanácea |
| Género: | <i>Physalis</i> |
| Especie: | <i>Peruviana</i> L. |
| Nombre científico: | <i>Physalis peruviana</i> L. |
| Nombre común: | Uvilla, uchuva |

Tabla 1: Clasificación taxonómica de la uvilla. Fuente (García, 2003).

1.2.2.3. Variedades o ecotipos

La uvilla tiene tres ecotipos que se indican en la Tabla 2.




| | |
|--|--|
| Colombiano o Golden Keniano  | El fruto es grande de color amarillo intenso, las semillas son redondas y aplanadas. Poseen mayor contenido de azúcares. |
| Ambateño  | Su tamaño es pequeño de color amarillo y verde. El sabor es agri-dulce. |
| Ecuatoriana  | Es el ecotipo más pequeño de color amarillo y gran concentración de vitaminas. |

Tabla 2: Variedades o ecotipos de la uvilla. Fuente (Brito, 2002).

1.2.2.4. Composición físico-química

La composición química depende del tipo de cultivo, fertilidad del suelo, época del año y grado de madures. La uvilla contiene cantidades importantes de azúcares y vitaminas. Es rica en vitamina C 18mg/100g de fruta fresca, como indica la Tabla 3 (García & Torres, 2002).

| Parámetros | Unidad | Cantidad |
|----------------------------------|--------|----------|
| Humedad | % | 81,2 |
| Cenizas | % | 1,0 |
| pH | % | 3,7 |
| Acidez Titulable (Ácido cítrico) | % | 1,2 |
| Vitamina C | mg/g | 18/100 |
| Sólidos Solubles | °Brix | 13,8 |
| Azúcares Totales | % | 12,2 |
| Azúcares Reductores | % | 4,6 |
| Fructosa | % | 2,7 |
| Glucosa | % | 2,6 |



| | | |
|---------------|------|------|
| Sacarosa | % | 3,4 |
| Ácido cítrico | mg/g | 8,9 |
| Ácido málico | mg/g | 1,3 |
| Calcio | % | 0,03 |
| Magnesio | % | 1,0 |
| Sodio | ppm | 140 |
| Potasio | % | 2,3 |
| Fósforo | % | 0,3 |
| Cobre | ppm | 9 |
| Hierro | ppm | 43 |
| Manganeso | ppm | 39 |
| Zinc | ppm | 13 |

Tabla 3: Composición físico-química de la uvilla en 100 g de fruta fresca.

Fuente (García & Torres, 2002).

1.2.2.5. Importancia nutricional

La uvilla posee aminoácidos esenciales como la isoleucina, valina y triptófano que son importantes para el crecimiento y reparación de tejidos en el cuerpo. Además contiene azúcares como: glucosa, sacarosa y fructosa; siendo el azúcar más abundante la sacarosa (Sheikha, Zaki, Bakr, Habashy, & Montet, 2010).

En la uvilla se encuentran fitoesteroles, el más abundante es el campesterol, que atribuye efectos fisiológicos como: propiedades antiinflamatorias, bactericida y fúngica (Puente, Pinto, Castro, & Cortés, 2011).

La uvilla es considerada nutritiva por el alto contenido de vitaminas A, C y E. La vitamina A está asociada al crecimiento y desarrollo; en cuanto a la diferenciación celular y tiene efecto inmunoestimulante. Los carotenoides están asociados con la actividad antioxidante. La vitamina C se encarga del mantenimiento y crecimiento de tejidos, y posee actividad antioxidante. También la uvilla posee minerales como el hierro y fósforo que se destacan en procesos metabólicos como el crecimiento, reproducción, formación de células, tejidos y órganos (Puente, Pinto, Castro, & Cortés, 2011).



1.2.3. Tomate de árbol (*Solanum betaceum*)

1.2.3.1. Descripción botánica

El tomate de árbol es una planta arbustiva, de tallo semileñoso que alcanza alturas de hasta tres metros. El fruto es una baya que se encuentra suspendida por un pedúnculo largo; es de color rojo, naranja o amarillo y generalmente de forma ovoide (Ávila Cubillos, 2015).

La pulpa jugosa tiene sabor agridulce típico y un aroma agradable. Posee un grosor variable y es de color anaranjado claro o morado según los diferentes cultivares. Las semillas son pequeñas de forma aplanada lenticular, de color blanco cuando tiernas; a medida que alcanzan la madurez se cubren de pigmentos anaranjados, rojizos o morados que darán la tonalidad al jugo de la fruta. Se encuentran recubiertas por una sustancia mucilaginoso y están firmemente adheridas a un tabique central (Larrea, 2003) (León, Viteri, & Cevallos, 2004).

1.2.3.2. Clasificación taxonómica

| | |
|--------------|-------------------------|
| Reino | Vegetal |
| División | Fanerógamas |
| Subdivisión | Angiospermas |
| Clase | Dicotiledóneas |
| Orden | Tubifloras |
| Familia | <i>Solanaceae</i> |
| Género | <i>Solanum</i> |
| Especie | <i>Solanum betaceum</i> |
| Nombre común | Tomate de árbol |

Tabla 4: Clasificación taxonómica del tomate de árbol.

Fuente (León, Viteri, & Cevallos, 2004).

1.2.3.3. Variedades o ecotipos

En Ecuador, los ecotipos de tomate de árbol presentan una gran variabilidad genética por lo que existen frutos de una amplia gama de tonalidades entre el anaranjado y el morado (León, Viteri, & Cevallos, 2004). Las principales variedades se indican en la Tabla 5.





| | |
|---|---|
| <p>Anaranjado puntón</p>  | <p>Los frutos a la madurez completa tienen color de piel anaranjada. Tienen forma alargada. El color de la pulpa y el mucílago que envuelve a las semillas es anaranjado.</p> |
| <p>Anaranjado redondo</p>  | <p>Los frutos tienen forma redondeada con un color anaranjado rojizo. El color de la pulpa es amarilla.</p> |
| <p>Amarillo</p>  | <p>Es de forma alargada ovalada, el color de la pulpa y el mucílago son amarillos. El fruto presenta un color amarillo intenso</p> |
| <p>Rojo o mora</p>  | <p>Los frutos presentan un color de piel rojizo oscuro de forma oblonga. La pulpa tiene un color anaranjado, mientras que el mucílago de rojo oscuro a morado que recubre las semillas.</p> |

Tabla 5: Variedades o ecotipos del tomate de árbol. Fuente (León, Viteri, & Cevallos, 2004) (Ávila Cubillos, 2015).

1.2.3.4. Composición físico-química

El tomate de árbol es una fruta de alto valor nutricional que contiene una fuente importante de beta carotenos (Provitamina A), vitamina C, vitamina E y hierro. Es rico en minerales, especialmente potasio y fósforo (Ávila Cubillos, 2015). La composición nutricional se presenta en la Tabla 6.

| Parámetros | Unidad | Cantidad |
|-----------------------|--------|-------------|
| Humedad | % | 81.0 – 89.0 |
| pH | | 3.2- 3.8 |
| Sólidos solubles | °Brix | 9.4- 13.5 |
| Grasa | g | 0.06- 1.2 |
| Carbohidratos totales | g | 10.3 |
| Glucosa | g | 0.4- 1.2 |
| | % | 1.1- 1.3 |
| Fructosa | g | 0.6- 1.5 |
| | % | 1.3- 1.6 |



| | | |
|---------------|----|-------------|
| Sacarosa | g | 0.3- 2.9 |
| | % | 1.8- 2.2 |
| Fibra | g | 1.4- 4.2 |
| Ácido cítrico | g | 1.2 – 1.8 |
| Ácido málico | g | 0.05 – 0.1 |
| Ceniza | g | 0.6 – 0.8 |
| Vitamina A | UI | 540 – 2475 |
| Vitamina B | mg | 0.2 – 0.5 |
| Hierro | mg | 0.3 – 0.9 |
| Vitamina C | mg | 23.0 – 33.9 |
| Fósforo | mg | 32.0 – 40.2 |
| Potasio | mg | 290 – 495 |
| Calcio | mg | 3.9 – 11.3 |
| Caroteno | mg | 0.3- 0.6 |
| Tiamina | mg | 0.38- 0.137 |
| Riboflavina | mg | 0.03- 0.04 |

Tabla 6: Composición del tomate de árbol por cada 100 g de porción comestible.

Fuente (Vasco, Avila, Ruales, & Svanberg, 2009).

1.2.3.5. Importancia nutricional

La composición nutricional del tomate de árbol es de importancia debido a que contiene componentes que contribuyen en la dieta. Posee niveles de vitamina A, B y C por lo que aporta 5% de la ingesta diaria recomendada de estos nutrientes (Vasco, Avila, Ruales, & Svanberg, 2009). Además, los frutos son bajos en calorías, constituyen un excelente recurso de fibra y contiene niveles muy bajos en grasa. El contenido de ciertos compuestos fenólicos, especialmente los flavonoides, conjuntamente con la disponibilidad de carotenoides y vitamina C constituyen indicadores de la calidad nutricional del tomate, debido a su capacidad antioxidante (Mertz, Gancel, Gunata, Dhuique-Mayer, & Vaillant, 2009).

Los antioxidantes son sustancias que en el organismo contribuyen a reducir el riesgo de múltiples enfermedades, como las cardiovasculares, cerebrovasculares, ciertos tipos de cáncer y otras enfermedades degenerativas, además de reforzar las defensas del organismo y retrasar el proceso de envejecimiento celular, ya que bloquean la actividad de los radicales libres (Ávila & Ruales, 2016).



1.2.4. Manzana (*Pyrus malus*)

1.2.4.1. Descripción botánica

El manzano es un árbol perenne cuyo ciclo de vida útil es alrededor de 60 a 80 años. Su altura está comprendida entre 4 y 10 m. El tallo es recto, con corteza grisácea cubierta de lenticelas. Las hojas son de forma oval, terminadas en punta, aserradas de color verde claro; poseen peciolo corto. Las flores son grandes, rosadas o blancas, hermafroditas y pedunculadas (Paredes, 2011) (Sánchez, 2004).

El fruto, se denomina pomo y es globoso, se desarrolla en el receptáculo floral, posee pedúnculo corto y dos semillas por carpelo de color marrón oscuro (Paredes, 2011). La pulpa puede ser dura o blanda, dependiendo de la variedad y madurez del fruto, con un sabor agradable y dulce por su contenido de azúcares (Sánchez, 2004).

1.2.4.2. Clasificación taxonómica

| | |
|-------------------|---|
| Reino | Vegetal |
| División | Espermatophyta |
| Subdivisión | Angiospermas |
| Clase | Dicotiledóneas |
| Orden | Rosales |
| Familia | Rosaceae |
| Subfamilia | Pomoidea |
| Género | <i>Pyrus</i> |
| Especie | <i>Pyrus malus</i> L. |
| Nombre científico | <i>Malus sylvestris</i> o <i>Malus communis</i> <i>Pyrus malus</i> L. |

Tabla 7: Clasificación taxonómica de la manzana.

Fuente (Paredes, 2011).

1.2.4.3. Variedades o ecotipos

En la Tabla 8 se presentan las variedades de la manzana.





| | |
|---|---|
| <p><i>Emilia</i></p>  | <p>Es la variedad más difundida y cultivada en el país. Los frutos son grandes, esféricos, achatados en los polos y de forma regular. La corteza es lisa, con una capa rojiza sobre fondo amarillo. Su pulpa es amarilla, de sabor intenso y equilibrado en dulzor y acidez, de alta jugosidad y muy aromática.</p> |
| <p><i>Jon-a-gold</i></p>  | <p>Los frutos son medianos, redondos, cónicos y de forma regular. La corteza posee lenticelas poco resaltadas, la cara expuesta al sol es roja y la otra cara es amarilla cuando madura. Su pulpa es blanca o crema, tiene algo contenido de azúcares y acidez media, es jugosa, medianamente aromática, crujiente y firme.</p> |
| <p><i>Granny Smith</i></p>  | <p>Los frutos son medianos, oblongos y de forma regular. La corteza es lisa y cerosa de color verde claro brillante que en ocasiones presenta unos puntos blanquecinos. Su pulpa es blanca, suave, muy ácida, crujiente y jugosa.</p> |
| <p><i>Royal gala</i></p>  | <p>Los frutos son pequeños o medianos, alargados, redondos y de forma regular. La corteza es de color rojo cuando la fruta alcanza la madurez. Su pulpa es blanca, jugosa, dulce, crujiente, firme y de aroma suave</p> |

Tabla 8: Variedades o ecotipos de la manzana. Fuente (Paredes, 2011) (INFOAGRO, 2003).

1.2.4.4. Composición físico-química

La manzana presenta varias características nutricionales importantes, el valor energético y la composición nutricional de 100 g de manzana se indican en la Tabla 9.

| Parámetros | Unidad | Cantidad |
|------------|--------|------------|
| Agua | g | 80 – 92 |
| Lípidos | g | 0.17- 0.60 |



| | | |
|-----------------------|------|-----------|
| Proteínas | g | 0.1-0.3 |
| Carbohidratos totales | g | 12-15 |
| Glucosa | g | 2.03 |
| Fructosa | g | 5.7 |
| Sacarosa | g | 2.5 |
| Fibra | g | 1 – 2.3 |
| Ácido cítrico | g | 0 – 30 |
| Ácido málico | g | 0.6 |
| Pectina | g | 0.4 |
| Ceniza | g | 0.3 |
| Vitamina A | mg | 0.03 |
| Vitamina B | mg | 0.2 – 0.5 |
| Hierro | mg | 0.1-0.3 |
| Vitamina C | mg | 5-17 |
| Vitamina B2 | mg | 0.03 |
| Fósforo | mg | 10-11 |
| Potasio | mg | 107-116 |
| Sodio | mg | 1-15 |
| Calcio | mg | 6-7 |
| Contenido calórico | Kcal | 50 |

Tabla 9: Composición química por cada 100 g de manzana.

Fuente (Paredes, 2011)

1.2.4.5. Importancia nutricional

La manzana posee características importantes desde el punto de vista dietético y funcional. Es un alimento estimulante de la función intestinal debido a su elevado contenido de pectina y fibra, que están presentes en la cáscara y pulpa de la manzana. Además es considerada antioxidante debido a que posee gran cantidad de flavonoides (Paredes, 2011).

Los azúcares se encargan de brindar el valor energético a la fruta. Los principales que se encuentran en la manzana son levulosa, dextrosa, fructosa, sacarosa y sorbitos. Conforme avanza el proceso de maduración el contenido de azúcares aumenta. También posee ácidos cítrico y málico que estimulan las funciones digestivas, y favorecen así al apetito (Sánchez, 2004).



1.3. Métodos empleados para la cuantificación de azúcares

1.3.1. Métodos tradicionales para cuantificación de azúcares en frutas

Los carbohidratos constituyen la mayor parte de los componentes vegetales. Los azúcares como la glucosa, fructosa y sacarosa se acumulan especialmente en el jugo celular. La identificación y cuantificación del contenido de carbohidratos en frutas es de vital importancia pues permite asegurar la composición que un producto alimentario pueda tener, así como también permite controlar el estado de las materias primas durante todo el proceso de transporte, almacenamiento o transformación (Cristancho & Monroy, 2014). Para su cuantificación se han desarrollado diversas técnicas analíticas que son utilizadas para determinar el contenido de azúcar en distintos productos frutales (Ríos Corripio, 2010). Los métodos tradicionalmente utilizados se indican en la Tabla 10.

| Método | Fundamento | Ventajas | Desventajas |
|----------------|---|--|---|
| Refractometría | El fenómeno de la refracción consiste en la desviación de trayectoria que sufre un haz de radiación monocromática al pasar desde el vacío a otro medio material de distinta densidad (Skoog D. , 2008). | <ul style="list-style-type: none">▪ Método sencillo▪ Instrumento económico | <ul style="list-style-type: none">▪ Rango de medición pequeño▪ La lectura depende del operario, por la que la exactitud es limitada.▪ Sin protocolo de medición.▪ Solo se analiza en muestras líquidas.▪ Las muestras deben estar distribuidas correctamente en el prisma de lo contrario la lectura no será confiable durante el análisis (Skoog D. , 2008). |
| Polarimetría | Es un método de análisis químico que nos permite medir el cambio que sufre el plano de luz polarizada cuando atraviesa un medio transparente formado por sustancias ópticamente activas (Molina, 2011). | Es una forma simple y precisa para determinación e investigación de lecturas en macro, semimicro y micro análisis de compuestos. | Requiere de costos elevados del equipo para su determinación (Gil, Correias, Ferreira, & Melero, 2003). |



| | | | |
|----------------------------------|---|--|--|
| <p>Espectrofotometría UV-Vis</p> | <p>Se basa en la relación que existe entre la absorción de luz por parte de un compuesto y su concentración. Cuando se hace incidir luz monocromática sobre un medio homogéneo, una parte de la luz incidente es absorbida por el medio y otra transmitida (Castro & Litter, 2006).</p> | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Alta sensibilidad ▪ Precisión ▪ Análisis rápido ▪ Fácil de usar ▪ Preparación mínima de la muestra | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Alto precio del equipo ▪ Requiere lámparas especiales ▪ Interferencia de otros compuestos ▪ Destruye la muestra (Romero, 2012) (Willard, 2005). |
|----------------------------------|---|--|--|

Tabla 10: Fundamento, ventajas y desventajas de las técnicas analíticas tradicionales empleadas en la cuantificación de azúcares en frutas.

1.3.2. Espectroscopía Infrarroja como estrategia en la cuantificación de azúcares en frutas

Una de las técnicas analíticas que ha presentado un desarrollo creciente en los últimos años en la industria azucarera mundial es la espectroscopía infrarroja (Coello, 2010). Esta es una técnica alternativa que presenta varias ventajas detalladas en la Tabla 11.

| Método | Ventajas | Desventajas |
|----------------------------------|---|---|
| <p>Espectroscopía infrarroja</p> | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Requiere cantidades muy pequeñas de la muestra y no la destruye (Ramírez, 2015). ▪ Se aplica para estudiar muestras sólidas, líquidas y gaseosas (Ramírez, 2015). ▪ Mejor relación señal/ruido y mejor resolución (Buquet, 2006). ▪ Mayor rapidez en la obtención de espectros debido a que la información de todas las frecuencias se toman al mismo tiempo (Skoog, West, & Holler, 2001). ▪ Permite un análisis rápido y además es un equipo de alta sensibilidad (Gennaro, 2003). ▪ La identificación de la longitud de onda que incide sobre la muestra es más exacta, ya que el equipo utiliza un láser para el calibrado de la misma (Sierra, Gómez, Morante, & Pérez, 2010). ▪ No destruye la muestra (Gennaro, 2003). ▪ Requiere menos mano de obra que los métodos tradicionales (Cristancho & Monroy, 2014) (Duarte, Barros, Delgadillo, & Gil, 2002). | <p>Proceso de calibración complejo (Páez, 2014) (Coello, 2010).</p> |

Tabla 11: Ventajas y desventajas de la aplicación de la espectroscopía infrarroja en cuantificación de azúcares en frutas.



1.3.3. Fundamentos de Espectroscopía Infrarroja

La espectroscopía infrarroja consiste en irradiar la muestra con energía de longitudes de onda correspondientes al espectro infrarrojo (2-15 μm) (Osibanjo, Rachael, & Lai, 2017). Los enlaces entre los átomos absorben esta energía, generando vibraciones moleculares características. El espectro infrarrojo de una molécula poliatómica está basado en estas vibraciones moleculares y la energía para producir esas vibraciones depende de la masa relativa de cada parte de la molécula (a mayor masa será necesaria más energía) y de la longitud del enlace. Esta energía puede medirse en la modalidad de transmisión o de absorbancia, siendo más popular la primera de ellas. La absorción de radiación es el resultado de los cambios energéticos producidos en las transiciones de las moléculas de unos estados de energía vibracionales a otros. Como consecuencia, el espectro infrarrojo completo de un compuesto orgánico proporciona una huella dactilar única, fácilmente distinguible del patrón de absorción infrarroja de otros compuestos, incluidos los isómeros (Atkins & Jones, 2006).

La espectroscopia infrarroja es una técnica importante en la determinación de la estructura molecular. Esta técnica permite identificar grupos funcionales de una molécula orgánica o discriminar estructuras en materiales diversos (Skoog, Holler, & Crouch, 2017). Una ventaja de la espectroscopía infrarroja sobre otras técnicas espectroscópicas, es que prácticamente todos los compuestos interactúan con la radiación infrarroja, y pueden por ello ser analizados de manera cualitativa y cuantitativa (Ríos Corripio, 2010).

1.3.3.1. Regiones del infrarrojo

La región del infrarrojo es una determinada zona de la radiación electromagnética, situada más allá de la parte roja de la región visible. La radiación infrarroja es un movimiento ondulatorio compuesto por un campo eléctrico oscilante que es perpendicular a la dirección de dispersión, y un campo magnético oscilante con la misma frecuencia de dispersión y perpendicular al campo eléctrico (Giancoli, 2006).

Las regiones de la espectroscopía infrarroja como indica la Tabla 12 son: infrarrojo cercano o próximo (NIR), medio o fundamental (MIR) y lejano (FAR).



| Región | Longitud de onda (λ), μm | Números de onda (ν), cm^{-1} |
|---------------|---|---|
| Cercano (NIR) | 0.78 a 2.5 | 12800 a 4000 |
| Medio (MIR) | 2.5 a 50 | 4000 a 200 |
| Lejano (FIR) | 50 a 100 | 200 a 10 |

Tabla 12: Regiones del espectro infrarrojo. Fuente (Skoog D. , 2008)

La zona que interesa desde el punto de vista de la identificación de compuestos orgánicos es la del infrarrojo medio que está comprendido entre 2.5-50 μm de longitud de onda (Skoog D. , 2008), esto se debe a que los grupos funcionales orgánicos tienen bandas de absorción características de esta región espectral (Wilks, 2006). La espectroscopía infrarroja lejana es particularmente útil para estudios inorgánicos (Osibanjo, Rachael, & Lai, 2017) y la zona del infrarrojo cercano puede aplicarse a cualquier molécula que contenga enlaces C-H, N-H, S-H, O-H (Pasquini, 2003).

1.3.4. Espectrometría infrarroja por Transformadas de Fourier (FTIR)

Un instrumento FTIR consiste en una fuente, divisor de haz, dos espejos, un láser y un detector; como se observa en la Figura 9. El divisor de haz y los espejos se denominan colectivamente interferómetro. La luz IR de la fuente golpea el divisor de haz, que produce dos haces de aproximadamente la misma intensidad. Un haz golpea un espejo fijo y vuelve, mientras que el segundo golpea un espejo móvil. Un láser es paralelo a la luz IR, y también pasa a través del interferómetro (Thermo Fisher Scientific, 2015).

El haz IR pasa a través de la muestra y alcanza el detector, que registra la intensidad total. La respuesta del detector produce un interferograma. El patrón de interferencia contiene información sobre todas las longitudes de onda que se transmiten a la vez, que es una función de la fuente, divisor de haz, espejos y muestra. Esta señal es digitalizada y procesada usando una computadora. El desvío de las frecuencias en un espectro se realiza mediante el algoritmo de transformada de Fourier, que da el nombre a todo el espectrómetro. Esto produce un espectro de "haz único". Un haz único de referencia o "background" se recoge sin una muestra (Thermo Fisher Scientific, 2015).

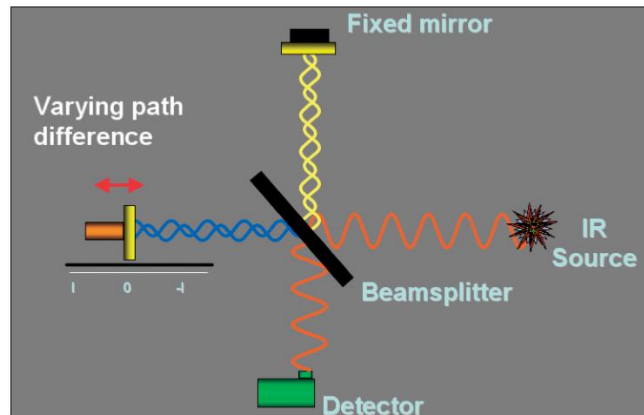


Figura 9: Esquema de un espectrómetro de FTIR.

Fuente (Thermo Fisher Scientific, 2015).

Los espectrómetros FTIR son equipos mucho más modernos, compactos y funcionales que los espectrofotómetros dispersivos. Los primeros permiten recolectar decenas de interferogramas de la misma sustancia y guardarlos en la memoria del ordenador, debido a que el interferograma se genera en menos de un segundo (Sierra, Gómez, Morante, & Pérez, 2010).



2. METODOLOGÍA

2.1. Obtención de la materia prima

Para la cuantificación de azúcares se utilizaron tres frutas andinas uvilla (*Physalis peruviana*), tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y manzana (*Pyrus malus*), cultivadas en la provincia del Azuay. Las variedades de las frutas utilizadas en el estudio fueron: ambateño (uvilla), anaranjado puntón (tomate de árbol) y emilia (manzana).

Se obtuvieron muestras en los mercados locales: Mercado 10 de Agosto, Feria Libre y Mercado 12 de Abril, durante el periodo Diciembre 2016 - Febrero 2017. Las frutas recolectadas tuvieron un peso aproximado de 396 g para la uvilla, 900 g de tomate de árbol y 450 g de manzana. Finalmente, las muestras fueron llevadas al Laboratorio de Análisis Instrumental de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca.

2.2. Muestreo y tamaño de la muestra

Para la selección de muestra se obtuvieron muestras aleatorias luego de descartar las frutas que no cumplieron con características organolépticas de color, integridad de la cáscara y ausencia de signos visibles de maltrato o enfermedades.

Para la elaboración de jugos se utilizaron 450 g de tomate de árbol, 225 g de manzana y 85 g de uvilla. Para la cuantificación de azúcares en pulpa el tamaño de muestra utilizada fue de 1 fruta por cada determinación.

2.3. Preparación del jugo y pulpa de las frutas

Para la cuantificación de azúcares se prepararon jugos por extracción de la pulpa sin adición de agua en un extractor doméstico Oster®. Posteriormente el jugo fue centrifugado a 3000 rpm por 15 minutos, ocupando el sobrenadante. Las cuantificaciones fueron realizadas en la pulpa sin tratamientos. Para el efecto se realizaron cortes en la parte media del fruto, evitando extraer semillas o corteza. Posteriormente se procedió a macerar en un mortero con el fin de obtener una papilla homogénea de las frutas en estudio (Duarte, Barros, Delgadillo, & Gil, 2002) (Garrigues, Akssira, Rambla, Garrigues, & de la Guardia, 2000).



2.4. Elaboración de curvas de calibración

2.4.1. Elaboración de las soluciones estándar

Se prepararon soluciones estándar de glucosa, fructosa y sacarosa de pureza $\geq 99.5\%$, a partir de una solución madre al 20% p/v. Mediante diluciones se obtuvieron patrones de 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4% y 5% p/v. Con estos patrones se obtuvieron espectros IR, cuyo análisis permitió obtener una relación concentración – absorbancia adecuada para el desarrollo de curvas de calibración.

2.5. Parámetros instrumentales del FTIR

El análisis de Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) se realizó en el Laboratorio de Análisis Instrumental de la Facultad de Ciencias Químicas. Se utilizó un equipo Thermo Nicolet iS5, que utiliza un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR) de ZnSe acoplado al FTIR. Se generaron espectros de los estándares y las muestras en estudio en la zona de infrarrojo medio ($700 - 4000 \text{ cm}^{-1}$), trabajando en modo de absorbancia. Se acumularon 32 scans por cada espectro. Como referencia, el espectro de fondo del medio gaseoso del equipo, principalmente nitrógeno, fue recolectado. El manejo, visualización y adquisición de espectros se realizó mediante el software OMNIC® (Thermo Fisher Scientific, 2015).

Se colectaron al menos 5 espectros para cada estándar y muestra a analizar. Se realizaron al menos tres repeticiones por experimento. Entre determinaciones, la celda fue limpiada cuidadosamente con metanol, con el fin de evitar interferencias y errores en las lecturas. Los datos obtenidos se utilizaron para realizar el análisis cuantitativo y determinar la concentración de azúcares en las muestras.

2.5.1. Modelamiento Concentración – Absorbancia

Para verificar la relación lineal entre los estándares y la absorbancia registrada en los espectros se utilizó el software TQ Analyst® (Thermo Scientific). Se desarrollaron métodos de cuantificación ingresando la información de los espectros previamente adquiridos con el software OMNIC®. En principio, el software verifica si existe dependencia lineal entre la concentración más baja y la más alta de los estándares utilizados en la cuantificación. Si la linealidad es aceptable se procede a obtener la curva de calibración con todos los estándares por el método de mínimos cuadrados (OLS). El



equipo realiza un análisis de varianza para verificar que el error experimental es mínimo y no afecta al modelo (Thermo Fisher Scientific, 2015).

2.6. Cuantificación de azúcares en las muestras

Cuando se cuenta con el método de cuantificación desarrollado por el software TQ Analyst®, se procede a cuantificar los azúcares presentes en las muestras adquiriendo la información de los espectros FTIR del jugo y pulpa de las frutas en estudio. Gracias a la opción de cuantificación se registra la concentración de azúcares de los frutos en estudio en %p/v.

2.7. Análisis estadístico de datos

Los datos obtenidos de las lecturas de glucosa, fructosa y sacarosa en jugo y pulpa de las frutas en estudio fueron organizados en una base de datos, mediante la plantilla Microsoft office Excel®. Para generar estadísticos descriptivos se usó la herramienta análisis de datos provista por este software.

2.8. Determinación del índice de refracción

Para la determinación del índice de refracción en el jugo de las frutas se utilizó el refractómetro de Abbe. Este método fue desarrollado con el fin de determinar la concentración de azúcares totales, para realizar una comparación con los datos obtenidos por FTIR. Para el efecto se colocó 2-3 gotas de la muestra en la superficie del prisma principal con una pipeta, se cerró cuidadosamente el prisma secundario. Finalmente, se observó por el ocular girando la perilla de compensación de color hasta que aparezca una línea clara y definida en el campo de visión. Se observó en la escala superior la lectura en °Brix.

2.9. Determinación de la densidad en el jugo de las frutas

La determinación de la densidad de los jugos en estudio se realizó por relación peso – volumen. Para el efecto se pesó un vial eppendorf de 1,5 mL vacío, posteriormente se midió 1 mL de jugo de fruta en el vial y se pesó nuevamente en la balanza analítica. Por medio de la fórmula $\rho = \frac{m}{v}$, se obtuvo la densidad en g/mL.



3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Curvas de calibración de azúcares por FTIR

A continuación se presentan los resultados de la elaboración de curvas de calibración de glucosa, sacarosa y fructosa obtenidas por espectroscopía FTIR. El software TQAnalyst® permitió establecer la relación concentración – absorbancia, aplicando la Ley de Beer. Las Figuras 10, 11 y 12, muestran las curvas de calibración obtenidas para sacarosa, fructosa y glucosa respectivamente.

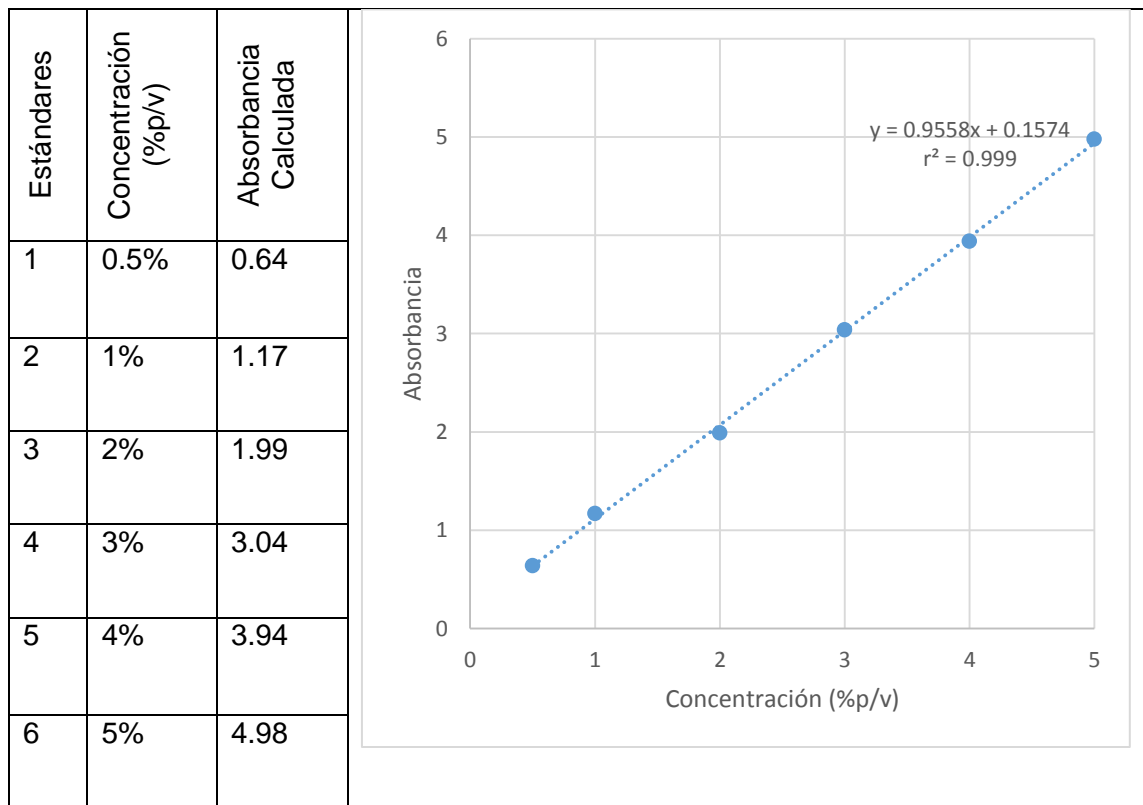


Figura 10: Curva de calibración para la sacarosa obtenida del espectro FTIR de las soluciones estándares.

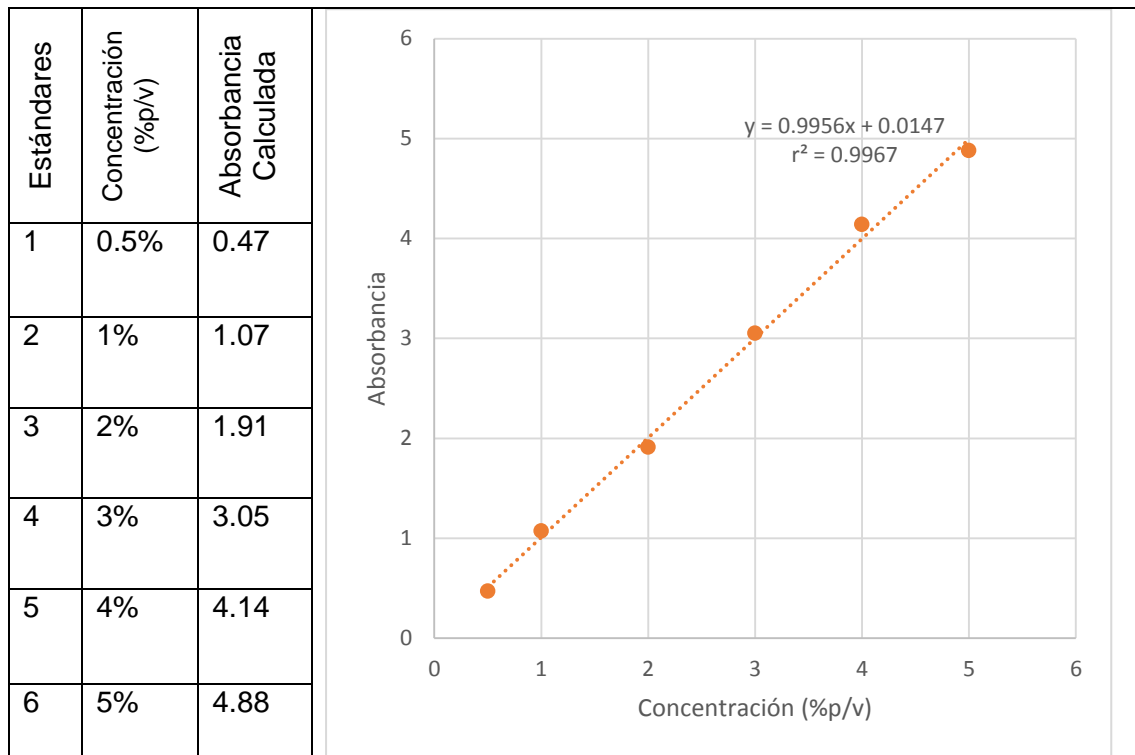


Figura 11: Curva de calibración para la fructosa obtenida del espectro FTIR de las soluciones estándares

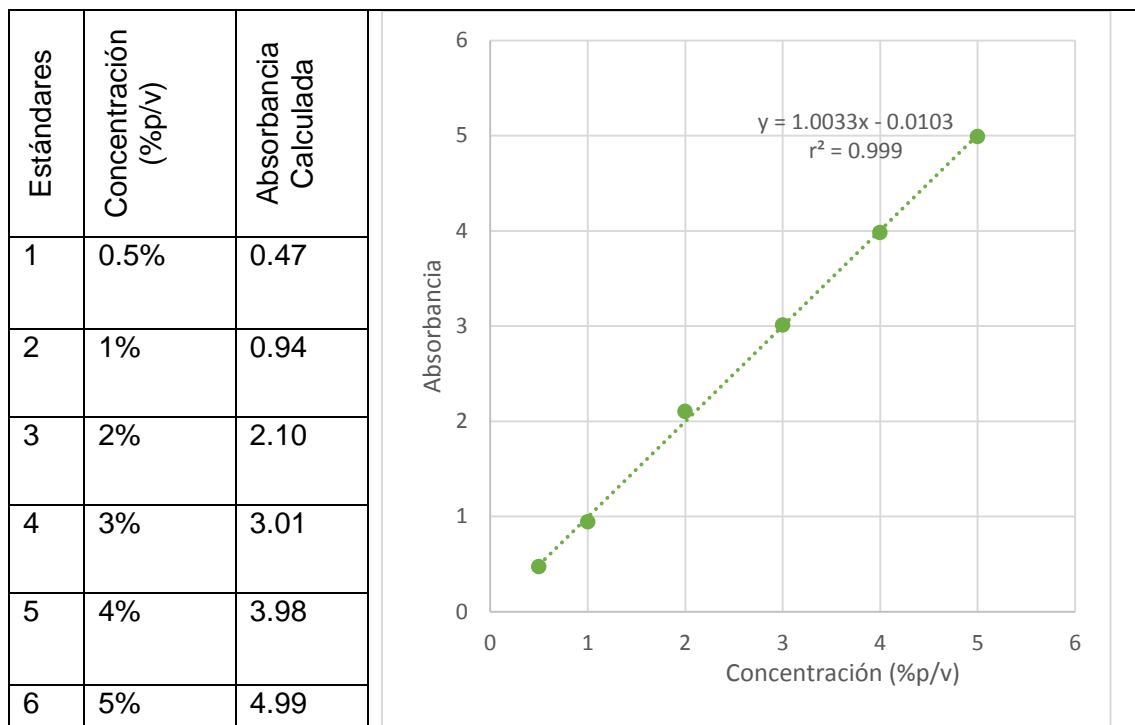


Figura 12: Curva de calibración para la glucosa obtenida del espectro FTIR de las soluciones estándares



Todas las curvas de calibración tuvieron un coeficiente de determinación (r^2) con valores cercanos a 1 (Tabla 13), lo cual indica que existe una buena relación concentración-absorbancia y que el modelo lineal es adecuado para realizar posteriormente las cuantificaciones de los azúcares en las muestras de frutas.

| Azúcares | r^2 |
|----------|--------|
| Glucosa | 0,999 |
| Fructosa | 0,9967 |
| Sacarosa | 0,999 |

Tabla 13: Coeficiente de determinación de las curvas de calibración

3.2. Cuantificación de azúcares en pulpa y jugo de los frutos en estudio

Una vez obtenidos los espectros en modo absorbancia de las muestras de jugo y pulpa de las frutas por medio del software OMNIC®, como muestran las Figuras 13 y 14 respectivamente; y contando previamente con las curvas de calibración obtenidas en TQAnalyst®, se determinó la concentración de glucosa, sacarosa y fructosa de los frutos en estudio en unidades de %p/v.

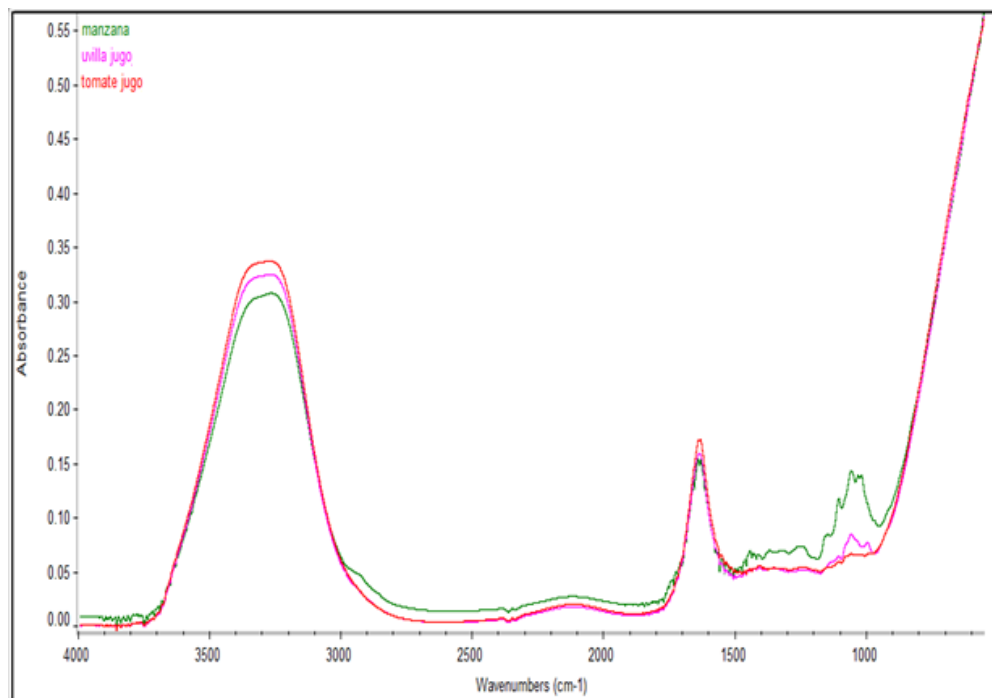


Figura 13: Espectros de las muestras de jugo de los frutos en estudio, registrados en modo absorbancia.

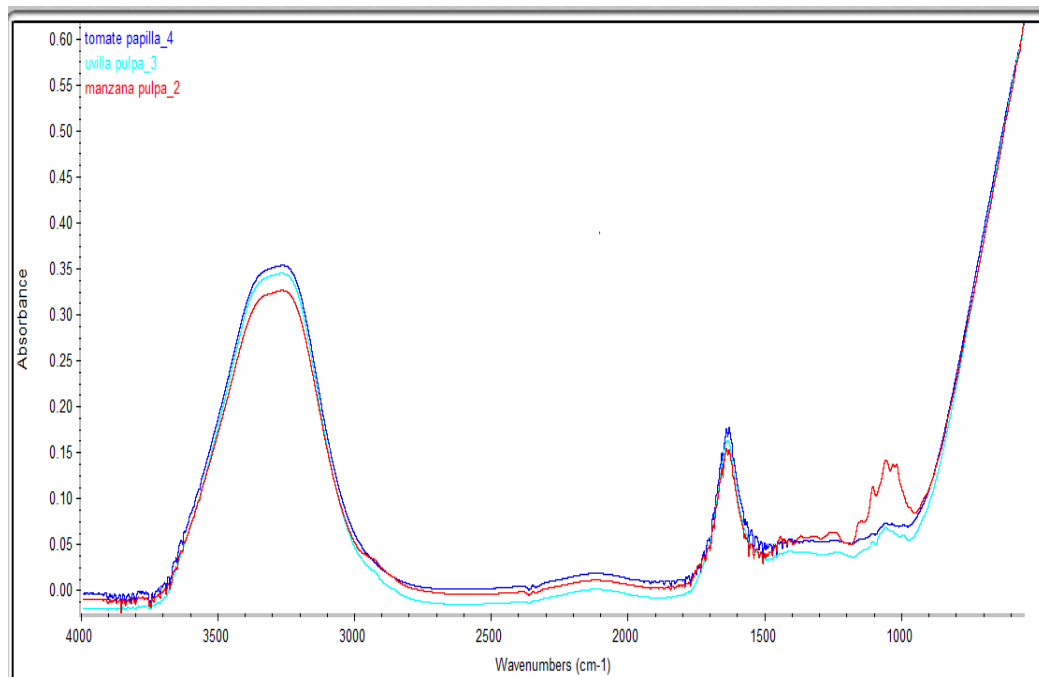


Figura 14: Espectros de las muestras de pulpa de los frutos en estudio, registrados en modo absorbancia

La determinación de la concentración de un analito, basada en la absorción de radiación infrarroja tiene los mismos fundamentos de las cuantificaciones en la región ultravioleta visible. La absorbancia se relaciona con la concentración mediante la Ley de Beer. En las figuras 13 y 14 se muestran los espectros de jugo y pulpa de frutas colectados en modo absorbancia. Las señales que se observan en el campo del IR medio corresponden a las vibraciones moleculares de enlaces. Para realizar la cuantificación se debe seleccionar una región del espectro donde exista una respuesta lineal entre la intensidad de la absorción y la concentración del analito en estudio. Esta aplicación es menos frecuente que la interpretación de espectros IR para identificar moléculas, no obstante puede ser de gran utilidad como se demuestra en este estudio (Harvey, 2017).

Las Tablas 14, 15 y 16 muestran los resultados obtenidos de la cuantificación de los azúcares por FTIR. El análisis de los datos muestran que la relación entre la media y la mediana indican una distribución normal de los datos.



| Estadísticos Descriptivos | | Concentración de azúcares | | | | | |
|---------------------------|---------------------|---------------------------|-----------|------------------|-----------|------------------|----------|
| | | Glucosa (% p/v) | | Fructosa (% p/v) | | Sacarosa (% p/v) | |
| | | Jugo | Pulpa | Jugo | Pulpa | Jugo | Pulpa |
| Medidas de Posición | Media | 6.58 | 9.79 | 7.48 | 5.97 | 2.94 | 1.67 |
| | Mediana | 7.01 | 9.88 | 7.61 | 6.02 | 3.58 | 1.56 |
| Medidas de Dispersión | Rango | 5.41-7.51 | 7.64-12.1 | 6.83 – 8.25 | 2.27-9.43 | 1.87-3.65 | 0.83-2.9 |
| | Error estándar | 0.22 | 0.42 | 0.13 | 0.62 | 0.22 | 0.16 |
| | Desviación estándar | 0.82 | 1.63 | 0.47 | 2.41 | 0.82 | 0.62 |

Tabla 14: Estadísticos descriptivos de las concentraciones de azúcares en jugo y pulpa de manzana (*Pyrus malus*)

| Estadísticos Descriptivos | | Concentración de azúcares | | | | | |
|---------------------------|---------------------|---------------------------|-----------|------------------|-----------|------------------|-----------|
| | | Glucosa (% p/v) | | Fructosa (% p/v) | | Sacarosa (% p/v) | |
| | | Jugo | Pulpa | Jugo | Pulpa | Jugo | Pulpa |
| Medidas de Posición | Media | 3.70 | 4.20 | 2.39 | 2.38 | 1.55 | 1.25 |
| | Mediana | 3.81 | 4.19 | 2.44 | 2.39 | 1.69 | 1.11 |
| Medidas de Dispersión | Rango | 3.23-3.93 | 2.95-5.46 | 1.97-2.63 | 0.59-4.38 | 1.02-1.81 | 0.14-2.83 |
| | Error estándar | 0.05 | 0.16 | 0.04 | 0.29 | 0.07 | 0.20 |
| | Desviación estándar | 0.22 | 0.66 | 0.18 | 1.11 | 0.28 | 0.79 |

Tabla 15: Estadísticos descriptivos de las concentraciones de azúcares en jugo y pulpa de tomate de árbol (*Solanum betaceum*)

| Estadísticos Descriptivos | | Concentración de azúcares | | | | | |
|---------------------------|---------------------|---------------------------|-----------|-----------------|-----------|------------------|----------|
| | | Glucosa (% p/v) | | Fructosa(% p/v) | | Sacarosa (% p/v) | |
| | | Jugo | Pulpa | Jugo | Pulpa | Jugo | Pulpa |
| Medidas de Posición | Media | 5.98 | 7.01 | 2.79 | 1.69 | 5.03 | 4.02 |
| | Mediana | 6.32 | 7.06 | 2.77 | 1.44 | 5.42 | 3.82 |
| Medidas de Dispersión | Rango | 4.2-6.97 | 4.98-9.38 | 2.55-3.16 | 0.22-3.92 | 2.89-5.96 | 1.5-6.64 |
| | Error estándar | 0.23 | 0.34 | 0.05 | 0.27 | 0.28 | 0.37 |
| | Desviación estándar | 0.89 | 1.38 | 0.18 | 1.13 | 1.08 | 1.53 |

Tabla 16: Estadísticos descriptivos de las concentraciones de azúcares en jugo y pulpa de uvilla (*Physalis peruviana L.*)



García y Torres (2002) indicaron que las concentraciones de los azúcares para la uvilla (*Physalis peruviana L.*) son 2.6% glucosa, 3.4% sacarosa y 2.7% fructosa en 100 g de fruta fresca.

Vasco, Ávila, Ruales y Svanberg (2009), reportaron concentraciones de azúcares para el tomate de árbol (*Solanum betaceum*) 1.1- 1.3 % glucosa, 1.8- 2.2 % sacarosa, 1.3- 1.6 % fructosa por cada 100 g de porción comestible.

Finalmente, Paredes (2011), reportó concentraciones de azúcares para la manzana (*Pyrus malus*): 2.03 g glucosa, 2.5 g sacarosa y 5.7 g fructosa por cada 100 g de fruta.

Los datos bibliográficos mencionados anteriormente no permiten establecer una comparación con los resultados obtenidos en espectroscopía infrarroja por FTIR, debido a que se desconoce el método que utilizaron los autores para la cuantificación de los azúcares y además se desconoce la variedad de fruta que utilizaron. Por esta razón se decidió establecer la comparación de los datos con un método tradicional como es la refractometría.

La concentración de azúcares totales se establece como el porcentaje de los azúcares mayoritarios en frutos mediante el uso del Refractómetro de Abbe. Para validar los datos obtenidos por espectroscopía FTIR, se comparó la sumatoria de porcentajes de glucosa, sacarosa y fructosa con la concentración de azúcares totales cuantificados por refractometría; como indica la Tabla 17.

Se logró comparar solamente los datos obtenidos de las muestras de jugo de los frutos en estudio, debido a que el método de refractometría permite la cuantificación de azúcares totales únicamente en muestras líquidas.



| Jugo de frutas | Azúcares totales | |
|-----------------|------------------|------------------------------|
| | FTIR %p/v | REFRACTOMETRÍA °Brix %p/p |
| Uvilla | 13.8 | 13 |
| Tomate de árbol | 7.64 | 8.1 |
| Manzana | 17 | 16.6 |

Tabla 17: Datos obtenidos de azúcares totales por FTIR (%p/v) y refractometría de los frutos en estudio

Como se observa en la Tabla 17, los resultados cuantificados por FTIR concuerdan con los obtenidos por refractometría, es decir el método empleado da resultados confiables, lo que nos indica que FTIR es un método factible para cuantificar azúcares en frutas.

A pesar de las diferencias encontradas en las unidades de los datos obtenidos por FTIR con los obtenidos por refractometría, se logró establecer la comparación de los datos en las mismas unidades al calcular experimentalmente la densidad de los jugos de los frutos en estudio, como indica la Tabla 18. La densidad calculada fue de 1.036 g/mL para la uvilla, 1.043 g/mL para el tomate de árbol y 1.035 g/mL para la manzana.

| Jugo de frutas | Azúcares totales | |
|-----------------|------------------|------------------------------|
| | FTIR %p/p | REFRACTOMETRÍA °Brix %p/p |
| Uvilla | 13.3 | 13 |
| Tomate de árbol | 7.32 | 8.1 |
| Manzana | 16.4 | 16.6 |

Tabla 18: Datos obtenidos de azúcares totales por FTIR (%p/p) y refractometría de los frutos en estudio.

Los resultados obtenidos permiten demostrar que la Espectroscopía Infrarroja por Transformadas de Fourier es un método que facilita la cuantificación de analitos en matrices complejas. Para obtener la concentración de azúcares en jugo y pulpa de frutas no se requieren pasos previos de purificación de muestras ni el uso de equipamiento costoso. A diferencia de los métodos tradicionales que permiten establecer el contenido de azúcares totales, la espectroscopía FTIR puede diferenciar el aporte de cada uno de los azúcares mayoritarios en el contenido de azúcares totales en un fruto. Los notorios avances en instrumentación y software hacen de estos métodos muy adaptables a condiciones de laboratorios de investigación y control de calidad.



CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

3.1. Conclusiones

- La espectroscopía infrarroja FTIR es un método fiable para la cuantificación de glucosa, sacarosa y fructosa en muestras de alimentos. Este método se ha convertido en una alternativa para el análisis de los azúcares debido a que es no invasivo y potencialmente más rápido que los métodos tradicionalmente empleados. Además, los métodos tradicionales tienen la desventaja que proveen información únicamente sobre el contenido total de azúcar en las muestras y necesitan reactivos químicos para la determinación.
- Se encontró una correlación satisfactoria entre los datos de los azúcares de los frutos, usando espectroscopia FTIR y los valores de referencia obtenidos por refractometría. En general, los resultados actuales sugieren que la espectroscopía FTIR, representa una herramienta rápida, confiable y rentable para la cuantificación de azúcares en jugos de frutas.

3.2. Recomendaciones

- Se recomienda que los frutos utilizados en el estudio sean de la misma variedad o ecotipo debido a que el contenido de azúcares puede cambiar de una variedad a otra.
- Se recomienda ampliar la investigación al comparar FTIR con otros métodos tradicionales como HPLC.
- Se recomienda ampliar la investigación al cuantificar el contenido de azúcares en frutos según el estado de maduración de los mismos.
- FTIR resultó ser una técnica efectiva para muestras de jugo de frutos debido a la homogeneidad en fase líquida, lo cual facilita la interacción con el haz de luz del equipo. En muestras de pulpa se pueden dar inconvenientes por la presencia de semillas, burbujas de aire, etc. Estos factores producen interferencia con el haz de luz. Por este motivo se recomienda preparar una papilla con la pulpa de las frutas usando un mortero. Este tratamiento genera una muestra homogénea, mejora la calidad de los espectros obtenidos y produce resultados dentro del modelo lineal.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Arias Acuña, F. (2006). *Química Orgánica*. Costa Rica: EUNED.
- Atkins, P. W., & Jones, L. (2006). *Principios de química: los caminos del descubrimiento*. Ed. Médica Panamericana.
- Ávila Cubillos, E. P. (2015). Manual de tomate de árbol. *Cámara de Comercio de Bogotá*, 12-15.
- Ávila, J., & Ruales, J. (2016). Influencia del estrés luminoso e hídrico en la postcosecha, propiedades físico-químicas y estimación de la capacidad antioxidante del tomate de árbol. *Revista Iberoamericana de Tecnología*, 17(1), 30-31.
- Bello Gutiérrez, J. (2000). *Ciencia bromatológica: principios generales de los alimentos*. Ilustrada.
- Brito, D. (2002). *Agroexportación de productos no tradicionales. Producción de uvilla para exportación*. Quito.
- Bruce, N. (2007). *Medición de Índices de Refracción*. Obtenido de <http://www.academicos.ccadet.unam.mx/neil.bruce/Design/indice%20de%20refraccion.pdf>
- Buquet, A. (2006). En *Manual de Criminalística Moderna* (págs. 146-147). México: Siglo XXI.
- Castro Quirós, M. (2005). *Carbohidratos y fibra*. Recuperado el Diciembre de 2016, de Guías alimentarias para la educación nutricional: https://www.ministeriodesalud.go.cr/gestores_en_salud/guiasalimentarias/carbohidratos.pdf
- Castro, M., & Litter, M. (2006). *Métodos espectrofotométricos UV-Vis*. Obtenido de <http://www.bvsde.paho.org/texcom/cd045364/MCEcap3.pdf>
- Coello, B. (2010). *Comparación de técnicas de espectroscopía vibracional*. Obtenido de <https://www.notijenck.com.ar/notas/comparacion-de-tecnicas-de-espectroscopia-vibracional-para-la-verificacion-de-materiales/>
- Cristancho, L., & Monroy, R. (2014). *Métodos generales para la determinación de carbohidratos*. Obtenido de <http://es.slideshare.net/LeidyCristancho/manual-de-mtodos-generales-para-determinacin-de-carbohidratos>
- Duarte, I., Barros, A., Delgadillo, C., & Gil, A. (2002). Application of FTIR Spectroscopy for the Quantification of Sugars in Mango Juice as a Function of Ripening. *Journal of agricultural and food chemistry*, 3104-3111.



- Feduchi Canosa, E. (2014). *Bioquímica: Conceptos esenciales*. Madrid, España: Médica Panamericana.
- Fischer, G. (2005). Cosecha y poscosecha de la uchuva. *ResearchGate*, 166-176.
- García, M. (2003). *Uchuva: cosecha y poscosecha*. Colombia.
- García, M., & Torres, R. (2002). Evaluación preliminar de algunos empaques como alternativa para prolongar la vida útil de la uvhuva. Medellín: Corpoica.
- Garrigues, J., Akssira, M., Rambla, F., Garrigues, S., & de la Guardia, M. (2000). Direct ATR-FTIR determination of sucrose in beet root. *ELSEVIER*, 247-255.
- Gennaro, A. R. (2003). En *Remington Farmacia* (págs. 728-731). Madrid- España: Médica Panamericana S.A.
- Giancoli, D. (2006). *Física*. Pearson Educación.
- Gil, J. J., Correas, J. M., Ferreira, C., & Melero, P. A. (2003). Obtenido de Polarimetría óptica: <http://www.optica.unican.es/rno7/Contribuciones/articulospdf/Gil.pdf>
- Grajales Muñiz, O. (2005). En *Apuntes de Bioquímica Vegetal. Bases para su aplicación fisiológica* (págs. 80-81). México, D.F.: UNAM. Recuperado el 2016, de https://books.google.com.ec/books?id=_zC3SseYwoIC&dq=carbohidratos&hl=es&source=gbs_navlinks_s
- Harvey, D. (Enero de 2017). *LibreTexts Chemistry*. Obtenido de UV/Vis and IR spectroscopy: [https://chem.libretexts.org/Textbook_Maps/Analytical_Chemistry_Textbook_Maps/Map%3A_Analytical_Chemistry_2.0_\(Harvey\)/10_Spectroscopic_Methods/10.3%3A_UV%2F%2FVis_and_IR_Spectroscopy](https://chem.libretexts.org/Textbook_Maps/Analytical_Chemistry_Textbook_Maps/Map%3A_Analytical_Chemistry_2.0_(Harvey)/10_Spectroscopic_Methods/10.3%3A_UV%2F%2FVis_and_IR_Spectroscopy)
- INFOAGRO. (Agosto de 2003). *El cultivo de la manzana*.
- Kennepohl, D., Farmer, S., & Reusch, W. (Julio de 2015). *LibreTexts Chemistry*. Obtenido de Conformations and cyclic forms of sugars: [https://chem.libretexts.org/Textbook_Maps/Organic_Chemistry_Textbook_Maps/Map%3A_Organic_Chemistry_\(Vollhardt_and_Schore\)/24%3A_Carbohydrates%3A_Polyfunctional_Compounds_in_Nature/24.02%3A_Conformations_and__Cyclic__Forms__of_Sugars](https://chem.libretexts.org/Textbook_Maps/Organic_Chemistry_Textbook_Maps/Map%3A_Organic_Chemistry_(Vollhardt_and_Schore)/24%3A_Carbohydrates%3A_Polyfunctional_Compounds_in_Nature/24.02%3A_Conformations_and__Cyclic__Forms__of_Sugars)
- Larrea, A. (2003). Efecto de la fertilización química y orgánica en el tomate de árbol. En INIAP (Ed.). Quito- Ecuador.
- León, J., Viteri, P., & Cevallos, G. (2004). Manual del cultivo de tomate de árbol (*Solanum betaceum*). En INIAP (Ed.). Quito- Ecuador: INIAP.



- Leopold, L., Leopold, N., Diehl, H., & Socaciu, C. (2011). Quantification of carbohydrates in fruit juices using FTIR spectroscopy and multivariate analysis. *Journal of Spectroscopy*, 93-104.
- Mckee, T., & Mckee, J. (2011). *Biochemistry: The Molecular Basis of Life*. Oxford: Oxford University.
- Mertz, C., Gancel, A., Gunata, Z., Dhuique-Mayer, C., & Vaillant, F. (2009). Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits. 381-387.
- Molina, F. (2011). *Refractometría y Polarimetría*. Obtenido de Análisis de productos agrícolas: file:///C:/Users/s-tef_000/Downloads/refractometria-y-polarimetria-2013-051942-1.pdf
- Nelson, D., & Cox, M. (2006). En *Lehninger: Principios de bioquímica* (4 ed., págs. 238-249). Barcelona: Omega.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2000). *Carbohidratos en la nutrición humana*. Roma.
- Osibanjo, R., Rachael, C., & Lai, Z. (Febrero de 2017). *LibreTexts Chemistry*. Obtenido de Infrared Theory: https://chem.libretexts.org/Core/Physical_and_Theoretical_Chemistry/Spectroscopy/Vibrational_Spectroscopy/Infrared_Spectroscopy/Infrared%3A_Theory
- Pacheco Leal, D. (2004). En *Bioquímica médica* (págs. 235-261). México: LIMUSA, S.A.
- Páez, F. (2014). *Espectrometría infrarroja por Transformadas de Fourier*. Obtenido de <http://noria.mx/lublearn/espectrometria-infrarroja-por-transformadas-de-fourier/>
- Paredes, T. (Junio de 2011). Estudio del proceso de horneado con microondas y su efecto sobre la calidad física y funcional del fruto de tres variedades de manzana (*Pyrus malus*). 1-14. Quito: INIAP. Recuperado el 2016, de <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/4936/1/CD-4468.pdf>
- Pasquini, C. (2003). Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. *Sociedade Brasileira de Química*, 14, 198-199. Obtenido de <http://www.scielo.br/pdf/jbchs/v14n2/15598.pdf>
- Peralta, E., Espinoza, P., & Vásquez, W. (2006). *Importancia de los cultivos andinos*. Obtenido de http://www.terraecuador.net/revista_42/42_importancia_cultivos_andinos.html
- Puente, L., Pinto, C., Castro, E., & Cortés, M. (2011). *Physalis peruviana*, the multiple properties of a highly functional fruit. *Food Research International*, 1733-1740.



- Ramírez, M. (2015). En *Tendencias de innovación en la ingeniería de alimentos* (págs. 26-27). OMNIA Publisher SL.
- Ríos Corripio, A. (2010). *Quimiometría en miel de abeja para la determinación de azúcares por espectroscopía infrarroja*. Obtenido de <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/6944>
- Rivera Rodríguez, V. (2008). Bases de la alimentación humana. Netbiblo.
- Romero, N. (2012). *Métodos de análisis para la determinación de compuestos en alimentos*. Obtenido de <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/ah833s/AH833S08.pdf>
- Sánchez, P. (2004). Procesos de conservación poscosecha de productos vegetales. Madrid: AMV.
- Sheikha, A., Zaki, M., Bakr, A., Habashy, M., & Montet, D. (2010). Biochemical and sensory quality of physalis juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 541-555.
- Sierra, I., Gómez, S., Morante, S., & Pérez, D. (2010). Análisis Instrumental. España: Gesbiblo, S.A.
- Skoog, D. (2008). Principios de análisis instrumental. *Análisis instrumental*.
- Skoog, D. A., Holler, J., & Crouch, S. (2017). Principles of Instrumental Analysis.
- Skoog, D., West, D., & Holler, J. (2001). En *Fundamentos de química analítica* (págs. 586-587). Barcelona- España: Reverté.
- Thermo Fisher Scientific. (2015). *Advantages of a Fourier Transform Infrared Spectrometer*.
- Vasco, C., Avila, J., Ruales, J., & Svanberg, U. (2009). Physical and chemical characteristics of golden-yellow and purple-red varieties of tamarillo fruit (*Solanum betaceum*). *Int J Food Sci Nutr*, 278-288.
- Vasudevan, D., & Sreekumari, S. (2011). En *Texto de Bioquímica* (págs. 60-64). México: Cuéllar Ayala.
- Voet, D., & Voet, J. (2004). Bioquímica. Buenos Aires- Argentina: Médica Panamericana. Recuperado el 2016, de https://books.google.com.ec/books?id=r5bedH_aST0C&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false
- Voet, D., Voet, J., & Pratt, C. (2007). En *Fundamentos de Bioquímica* (Segunda ed., págs. 207-371). Madrid, España: Médica Panamericana. Recuperado el 2016, de <https://books.google.com.ec/books?id=FXDiqLK6GmAC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>



Wilks, P. (2006). *Spectroscopy*. Obtenido de NIR versus Mid-IR:

<http://www.spectroscopyonline.com/nir-versus-mid-ir-how-choose>

Willard, H. (2005). *Métodos instrumentales de análisis*. *Compañía Editorial Continental*.