

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA

FACULTAD DE INGENIERIA QUIMICA

TESIS : “EVALUAR LA ESTABILIDAD DE LA PRO
VITAMINA A EN LA PULPA LIOFILIZADA
DE TRES MORFOTIPOS DE AGUAJE
(*Mauritia flexuosa* L.f)”

PRESENTADO POR :
MARA LUJAN NAVARRO

PARA OPTAR EL TITULO DE INGENIERO QUIMICO

ASESORES :
Dra. MARITZA GRANDEZ RUIZ
Dr. VICTOR E. SOTERO SOLIS

IQUITOS – PERÚ

2010

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA

FACULTAD DE INGENIERIA QUIMICA

TESIS: "EVALUAR LA ESTABILIDAD DE LA PRO VITAMINA A
EN LA PULPA LIOFILIZADA DE TRES MORFOTIPOS
DE AGUAJE (*Mauritia flexuosa* L.f)"

PRESENTADO POR:

MARA LUJAN NAVARRO

PARA OPTAR EL TITULO DE INGENIERO QUIMICO

JURADOS

.....
Dr.Cesar saenz
Presidente

.....
Ing. Luis Gómez Tuesta
Miembro

.....
Ing. Armando Cabrera
Miembro

DEDICATORIA

Quien me Dio toda las fuerzas para continuar adelante y seguir Firme en mis decisiones Dios, El que siempre estuvo a mi lado y me sostuvo de mi mano derecha para no desmayar ante las aflicciones de la vida.

A mis padres Daniel y Azalia por La paciència y La perseverencia en impulsarme siempre hacia adelante con humildad y optimismo para alcanzar los retos de La vida.

A mis hermanos Alan y David por sus incanzables bromas y sus sarcasmos contínuos y a mi gran tesoro mi hijo Diego Alonso mi mayor inspiración

AGRADECIMIENTO

- ✓ Al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana por la oportunidad de haber brindado las condiciones e instalaciones necesarias para poder realizar la ejecución del presente estudio.
- ✓ Al Instituto de Medicina Tradicional (IMET) en especial al Dr. Ernesto Nina Chora por el asesoramiento incondicional y la facilidad de brindar la información pendiente en la culminación del presente estudio
- ✓ A la Facultad de Ingeniería Química; Laboratorio de Química Analítica por facilitar la enseñanza en las ejecuciones de análisis pendientes en la realización del presente estudio
- ✓ A la Ing. Flor de María Colome por su enseñanza en la utilización de las isothermas de adsorción.
- ✓ A la biblioteca especializada de la Facultad de Ingeniería Química por brindarme el acceso para obtener información sobre el presente trabajo
- ✓ A todas las personas que colaboraron directa o indirectamente para la realización y culminación del presente trabajo
- ✓ El presente estudio se realizo con el apoyo financiero de INCAGRO con el proyecto **“Mejoramiento genético, caracterización molecular y tecnologías de alto valor agregado del aguaje (*Mauritia flexuosa* L.f) de la Amazonía”** convenio que se dio con el IIAP.

INDICE

Agradecimientos	vii
Resumen	1
Introducción	2
Objetivos	6
Capítulo I	
Generalidades sobre la materia prima	7
1.1 Identificación	7
1.2 Distribución, Ecología y edafología	8
1.3 Descripción	9
1.4 Utilización	10
1.5 Producción y cosecha	11
1.6 Conservación y valor nutritivo	11
1.7 Minerales y micronutrientes que se encuentran presentes en el fruto	13
Capítulo II	
Descripciones que se determinaran en la materia prima	15
2.1 Pro vitamina	15
2.1.1 Diferencia entre vitamina y pro vitamina	15
2.1.2 Distribución y estado natural	15
2.1.3 Los retinoides y los carotenoides tienen actividad de vitamina A	16
2.1.4 Conversión de β -caroteno en vitamina A	17
2.1.5 El β -caroteno	18
2.1.6 Actividad biológica	19
2.1.7 Importancia	21
2.2 Cápsulas	22
2.2.1 Cápsulas amiláceas	24
2.2.2 Cápsulas gelatinosas	25

2.3 Estabilidad	26
2.4 Secado o deshidratación	33
2.5 Liofilización	35
2.5.1 Operaciones unitarias en la liofilización	34
2.5.2 Ciclo de la liofilización	36
2.5.3 Congelación del producto	36
2.5.4 Transferencia de masa y de calor en la liofilización	37
2.6 Isotermas de adsorción	39
2.6.1 Descripciones de isotermas de adsorción en fisicoquímica	40
2.6.2 Modelos de equilibrio higroscópico	41
2.6.3 Actividad de agua	42
2.6.4 Formas de manejar la actividad de agua	44
2.6.5 Medición de la actividad de agua	45
2.6.6 Relación entre la actividad de agua y la humedad relativa en equilibrio	46
2.6.7 Relación entre la actividad de agua y el contenido de agua	46
2.6.8 Relación entre la actividad de agua y la temperatura	47
2.7 Actividad antioxidante	48
2.7.1 Antioxidantes	48
2.7.2 Las vitaminas y los antioxidantes esenciales	49
 Capítulo III	
Materiales y métodos	51
3.1 Localización de la materia prima	50
3.2 Preparación del material	50
3.3 Materiales de laboratorio	51
3.4 Equipos, instrumentos y otros	52
3.5 Reactivos y disolventes	52
3.6 Metodología	52

Capítulo IV

Resultados y discusiones	59
4.1 Evaluación química antes del liofilizado	59
4.2 Determinación del peso del fruto por liofilización	60
4.3 Humedad de equilibrio experimental	61
4.4 Estabilidad	67
4.5 Pro vitamina	71
4.6 Micronutrientes y minerales	73
4.7 Actividad antioxidante	75

FIGURAS

Figura 1: Color de los morfotipos de aguaje	3
Figura 2: Planta de aguaje	7
Figura 3: Diferentes tamaños y formas de los morfotipos	9
Figura 4: Frutos de aguaje	9
Figura 5: Representación estructural del β -caroteno en vitamina A	17
Figura 6: El β -caroteno y su división a retinaldehído, reducción a retinol y la oxidación a ácido retinoico	19
Figura 7: Absorción de vitamina A preformada y pro vitamina A del intestino delgado	20
Figura 8: Cápsulas de aguaje liofilizado	23
Figura 9: Conversión de carotenoide 5,6-epóxidos en 5,8-furanoides	31
Figura 10: Procesos / operaciones que se dan en la liofilización	35
Figura 11: Ciclo que presenta un producto en la liofilización	36
Figura 12: Balance de masa y de calor que se ejecuta en la liofilización	38
Figura 13: Isotherma de desorción de agua en la que se muestra la histéresis	45
Figura 14: Racimo de aguaje después de la recolección	50
Figura 15: Tratamiento de maduración de frutos de aguaje	51
Figura 16: Estructura de la Pro vitamina A (β – caroteno)	56
Figura 17: Estructura de la Vitamina A (Retinol)	56
Figura 18: Ajuste de los valores experimentales de morfotipo amarillo ecuación BET	64
Figura 19: Ajuste de los valores experimentales de morfotipo color ecuación BET	64
Figura 20: Ajuste de los valores experimentales de morfotipo Shambo ecuación BET	65
Figura 21: Ajuste de los valores experimentales de morfotipo Amarillo ecuación GAB	65
Figura 22: Ajuste de los valores experimentales de morfotipo color ecuación GAB	66
Figura 23: Ajuste de los valores experimentales de morfotipo shambo ecuación GAB	66

CUADROS

Cuadro 1: Concentración de β -caroteno y α -tocoferol de los morfotipos color, amarillo y shambo.....	12
Cuadro 2: Valor nutricional de minerales encontrados en tres morfotipos de la pulpa fresca de aguaje (<i>Mauritia flexuosa</i> L.f).....	14

TABLAS

Tabla 1: Evaluación química de pulpa de aguaje fresca antes de liofilizar.....	60
Tabla 2: Peso de aguaje de pulpa fresca y liofilizada	61
Tabla 3: Comportamiento químico de muestras liofilizadas de aguaje, para los Morfotipos Amarillo, Color y Shambo	69
Tabla 4: Determinación de análisis microbiológicos	71
Tabla 5: Estabilidad del β -caroteno (mg/100g) en cápsulas de gelatina conteniendo pulpa liofilizada de aguaje de tres morfotipos almacenadas a 30°C, por espectrofotometría a luz visible de 450nm	74
Tabla 6: Datos experimentales de metales obtenidos en el aguaje Liofilizado de tres morfotipos	75
Tabla 7: Evaluación de la actividad antioxidante, como porcentaje de inhibición del radical DPPH por la pulpa liofilizada de tres morfotipos de aguaje	76
Tabla 8. Evaluación de la actividad antioxidante por secuestro del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) y determinación del IC ₅₀ en extracto metanólico de camu camu	77
Tabla 9: Evaluación de la actividad antioxidante por secuestro del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) y determinación del IC ₅₀ en extracto metanólico de Anona, Chope, Huasaí, Huito, Uvilla y Castaña	78

CONCLUSIONES

RECOMENDACIONES

BIBLIOGRAFÍA

RESUMEN

El objetivo del presente estudio, se orienta en determinar la estabilidad de la pro vitamina A de tres morfotipos de aguaje: Amarillo, Color, Shambo. Extrayendo la pulpa fresca de estos frutos, se procedió a liofilizarlos, sometidas a deshidratación a $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Se evaluó la estabilidad de la pro vitamina A, que se encuentra presente en la pulpa liofilizada de aguaje, evaluando su comportamiento en cápsulas de gelatina, sometida herméticamente en una estufa, a temperatura $\geq 30^{\circ}\text{C}$ denotando la presencia de la misma, mediante el método de espectrofotometría, que indica la presencia de β -caroteno. También se realizó análisis bromatológicos, para determinar el tiempo de vida útil de la muestra dentro de su envoltura, lo cual indica que al pasar el tiempo, la pérdida en la firmeza del producto, normalmente es el resultado de un cambio químico, que puede ocurrir a través de la interacción entre los ingredientes dentro de un producto, o raramente entre el producto y recipiente. Su comportamiento microbiológico antes de que las muestras sean encapsuladas, indica la presencia de Bacterias Heterotróficas y Mohos con una posible contaminación de la muestra, siendo el límite 10^3 UFC/mL para mohos y levaduras; donde se observa, que después de seis meses de almacenamiento se pierden a un rango inferior a 10.

Para determinar, si la pulpa de aguaje liofilizada es propensa a ganar humedad fácilmente del ambiente en que se encuentra, se ejecutó el análisis de humedad de equilibrio para cada morfotipo utilizando el método de las isotermas de adsorción y así determinar si la muestra analizada es higroscópica o no. Así mismo, se analizó la actividad antioxidante para cada morfotipo, con concentraciones de dilución de $10000\text{ }\mu\text{g/mL}$, $3000\text{ }\mu\text{g/mL}$, $1000\text{ }\mu\text{g/mL}$ y $300\text{ }\mu\text{g/mL}$ en metanol, antes de que las muestras fueran encapsuladas.

INTRODUCCIÓN

El aguaje (*Mauritia flexuosa* L.f.), es una de las especies representativas de la selva baja peruana y su fruto es muy apreciado por los pobladores de esta región, en contraste con otros países amazónicos, es en el Perú donde se aprecia el consumo de su pulpa, ya sea en forma directa o en refrescos, helados, yogures, mermeladas entre otros usos se trata de una palmera nativa de la amazonía, se considera originaria de las cuencas de los ríos Huallaga, Marañón y Ucayali en el Perú. Tiene amplia distribución en la cuenca amazónica de Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Venezuela y Guyana. Prospera en terrenos temporales o permanentemente inundados, preferentemente en áreas pantanosas o con mal drenaje de histosoles ácidos (FLORES, 1997).

El aguaje, desempeña un papel importante en la compleja cadena alimentaria del bosque tropical, debido a que su fruto es alimento importante de especies como el majaz, sajino, huangana, sachavaca, entre otras especies de aves y peces.

Aún después de muerto, el aguaje sigue siendo útil, puesto que en los troncos caídos se crían larvas de coleópteros de la familia Curculionidae (Suris), los cuales constituyen un complemento a la dieta proteica y son muy apetecidos por su sabor y alto contenido de grasa. De esta manera, el aguaje juega un papel importante en algunas comunidades indígenas; encontrándose, además, ligada al origen, historia y mitología de nuestra cultura (URREGO, 1987).

Publicaciones recientes nos indican que su alto contenido de vitamina A, convierte al fruto del aguaje, en un recurso inigualable para la dieta de niños y madres gestantes, pues ayuda a la formación y el mantenimiento de dientes sanos, tejidos blandos y óseos, membranas mucosas y la piel. Esta vitamina contribuye a mejorar la visión, especialmente ante la luz tenue y también, es necesaria durante la reproducción y la lactancia (IIAP, 2006).

La estabilidad es la capacidad de mantener un principio activo de un producto que aseguren sus propiedades físicas, químicas y microbiológicas dentro de límites especificados (ISPC ,1995).

Los carotenoides, son los pigmentos responsables de la mayoría de los colores amarillos, anaranjados y rojos de frutos y verduras, debido a la presencia en su molécula de un cromóforo consistente, total o principalmente en una cadena de dobles enlaces conjugados. Están presentes en todos los tejidos fotosintéticos, junto con las clorofilas, así como, en tejidos vegetales no fotosintéticos, como componentes de cromoplastos, que pueden ser considerados cloroplastos degenerados. (HARPER, 2002)

Los diferentes morfotipos de frutos encontrados del aguaje se caracterizaron basándose en la clasificación propuesta por (VILLACHICA, 1996) morfotipo “amarillo o ponguete”, con mesocarpio amarillo; morfotipo “color”, parte superficial del mesocarpio rojo y parte interna amarillo; y el morfotipo “shambo”, con mesocarpio totalmente rojo (*Figura 1*).

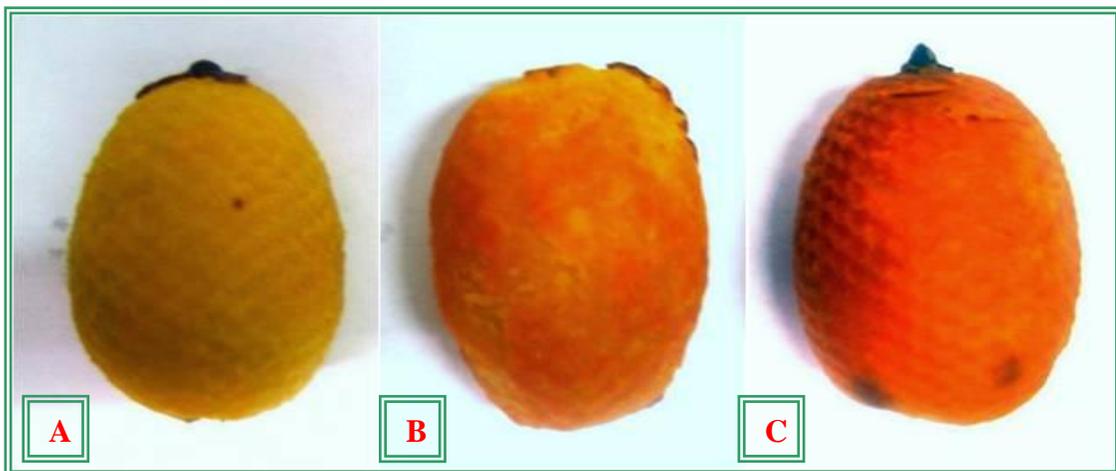


Figura 1. Color de pulpa del fruto maduro de aguaje de los morfotipos amarillo (A), color (B) y shambo (C).

Químicamente, los carotenoides son terpenoides, formados básicamente, por ocho unidades de isopreno, de tal forma, que la unión de cada unidad se invierte en el centro de la molécula. En los carotenoides naturales sólo se encuentran tres elementos: C, H y O. El oxígeno, puede estar presente como grupo hidroxilo, metoxilo, epoxi, carboxilo o carbonilo. Dentro de los carotenoides podemos distinguir dos grupos: los carotenos, que son hidrocarburos, y las xantofilas, que poseen oxígeno en su molécula (RODRIGUEZ-AMAYA, 1992)

El National Cancer Institute (NCI), Washington, Estados Unidos, señalan que el β -caroteno natural puede proteger a seres humanos y animales de varios tipos de cáncer. De hecho, los carotenoides naturales, junto con la vitamina E, pueden ser los anticancerígenos más importantes presentes en los alimentos (CALVO, 2000).

Actualmente es posible obtener pulpa congelada, concentrada, deshidratada, atomizada de pulpa de camu camu, lo cual se predice que puede obtenerse pulpa refinada, liofilizada, atomizada y productos con alto valor agregado como sachets, polvos hidrolizables, complementos vitamínicos, entre otros. (VÁSQUEZ, 2000).

Uno de los procesos más adecuados, es la liofilización, que genera la deshidratación por congelación y sublimación, bajo condiciones cuidadosamente controladas de presión y temperatura, para dejar una estructura que revierta el estado previo, por adición de agua (AMOS, 1986). Estos procesos son muy importantes para incrementar el contenido vitamínico de la pulpa del aguaje, así como, para conservar la pro vitamina A, por el mayor tiempo posible sin sufrir mayor disminución, ya que es considerada la más sensible y lábil, susceptible de deteriorarse fácilmente por oxidación, cambios de pH, temperatura y acción de la luz, entre otros (BELITZ, 1982).

Los análisis bromatológicos, muestran una buena concentración de aceite que posee la pulpa del aguaje (*Mauritia flexuosa* L.f). Así como la presencia de pro vitamina A (β – caroteno) o también conocida como vitamina A que es el nombre genérico utilizado para describir al retinol, sus ésteres y los correspondientes isómeros. Sólo está presente, como tal, en los alimentos de origen animal, que son los mamíferos y peces marinos, aunque en los vegetales se encuentra como pro vitamina A en forma de carotenos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Realizar la evaluación de la estabilidad de la pro vitamina A, en la pulpa liofilizada de tres morfotipos de aguaje (*Mauritia flexuosa L.f.*).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar los análisis químicos bromatológicos, de la pulpa de tres morfotipos de aguaje en estudio antes y después de la liofilización
- Análisis de la pro vitamina A y su comportamiento en las pulpas liofilizadas
- Determinar las curvas de adsorción de la pulpa de aguaje liofilizado y su comportamiento a diferentes concentraciones de actividad de agua, para predecir sus equilibrios de saturación y clasificarlos de acuerdo a su comportamiento.
- Evaluar la actividad antioxidante de las pulpas liofilizadas
- Evaluar la estabilidad de las muestras liofilizadas a temperatura ambiente y encapsulada durante seis meses de almacenamiento.

CAPÍTULO I

GENERALIDADES SOBRE LA MATERIA PRIMA

1.1 IDENTIFICACIÓN

Taxonomía de la planta

CARLOS LINNEO, 1781; clasifica su taxonomía del Aguaje (*Mauritia flexuosa*) de la siguiente manera:

Reino	: Vegetal
División	: Magnoliophyta
Clase	: Liliopsida
Orden	: Arecales
Familia	: Arecaceae
Sub Familia	: Calamaoideae
Tribu	: Lepidocaryeae
Género	: <i>Mauritia</i>
Especie	: <i>Mauritia flexuosa</i> L.f.
Nombre científico	: <i>Mauritia flexuosa</i> L. F.
Nombre Común	: Aguaje, achual (Perú); Caranday-guazu, ideuí (Bolivia); Buriti, burití-do-brejo, miriti, buritirana (Brasil); Canangucha, moriche, aguaje, mirití (Colombia); Moriche (Venezuela).
Sinónimos erróneos	: <i>Mauritia vinífera</i> Mart.

1.2 DISTRIBUCIÓN, ECOLOGÍA Y EDAFOLOGÍA



Figura 2. Planta de aguaje

El Aguaje (*Mauritia flexuosa* L.f), es una de las palmeras más abundantes en Sudamérica; se distribuye en el occidente por Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia; y hacia el oriente – a través de las cuencas del Amazonas y del Orinoco por Venezuela, las Guyanas, Trinidad y los estados brasileños de Bahía, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais y Sao Paulo.

En la selva peruana, se cultiva y explotan poblaciones naturales en los departamentos de Loreto, Ucayali, Huánuco y San Martín. Aunque, crece a baja altitud, puede ser encontrado ocasionalmente en las faldas de los andes orientales, hasta los mil metros de altitud (*Figura 2*) (CALZADA ,1980).

El aguaje, también llamado buriti, en Brasil y moriché, en Colombia y Venezuela, fue la primera palmera amazónica descrita por la ciencia, (ACERO 1979). Actualmente, es considerada como una planta promisoriosa, que puede mejorar la calidad de vida de los hombres y mujeres que viven en la Amazonía.

El hábitat natural del aguaje, está formado por pantanos y zonas de drenaje pobre, donde predominan los suelos permanente o temporalmente inundados. (CASTRO, 1993). En estas agrupaciones, denominadas aguajales, los pobladores nativos distinguen dos tipos de ecosistemas: una formación mixta de aguaje con unguurahui y otras especies llamada sacha aguajal, y una formación casi pura, llamada aguajal.

1.3 DESCRIPCIÓN

La fructificación se inicia entre los 7-8 años de plantado, cuando logran una altura de 6-7m. La fructificación es todo el año, con mayores concentraciones entre los meses de febrero-agosto y relativa escasez los meses de setiembre-noviembre. El momento óptimo de cosecha es cuando los frutos tienen un color marrón intenso y los frutos se desgajan fácilmente. El aguaje produce en promedio ocho racimos por palmera, y cada racimo produce aproximadamente 725 frutos, por lo que la media estimada es de 290 kilos por palmera. El fruto es una drupa, subglobosa o elíptica, mide 5-7 cm. de longitud y 4-5 cm. de diámetro, el peso varía 40-85 g.; el epicarpo es escamoso de color pardo a rojo oscuro; el mesocarpo suave, amiláceo, de color amarillo, anaranjado o anaranjado rojizo, tiene un espesor de 4-6 mm y constituye entre el 10-21% del fruto; el endocarpo es una lámina delgada de color blanco. La semilla, 1-2 por fruto, es subglobosa, sólida y con albumen blanco; constituye el 40-44,5% del fruto (GEILFUS, 1994).

En cuanto a su gran variabilidad morfológica y tamaño, existen diversas formas y cantidad de pulpa de los frutos independiente del color de mesocarpo. El tamaño de los frutos varía entre 3.66 a 6.78 cm de longitud y de 2.13 a 4.28 cm de diámetro (*Figura 3*), mientras que la forma puede ser ovoidea o elíptica. La variabilidad observada en estas características fue independiente entre y dentro de los morfotipos. (OCHOA, 2009)



Figura 3. Diferentes tamaños y formas de los morfotipos de frutos estudiados del aguaje (*Mauritia flexuosa* L. f.)

1.4 UTILIZACIÓN

Fruto

El uso principal del fruto es en alimentación directa humana. El fruto maduro se ablanda en agua limpia a una temperatura de 60°C durante un lapso de 4 a 6 horas aproximadamente, las escamas se eliminan y se extrae el mesocarpo. Las bebidas de aguaje se preparan diluyendo el mesocarpo, en agua con azúcar o sometiendo a fermentación; el mesocarpo también puede deshidratarse y reconstituirse para bebidas (Figura 4). El consumo tradicional del aguaje, es masticando directamente el mesocarpo del fruto. Otros productos que se obtienen del mesocarpo son harinas y aceite.

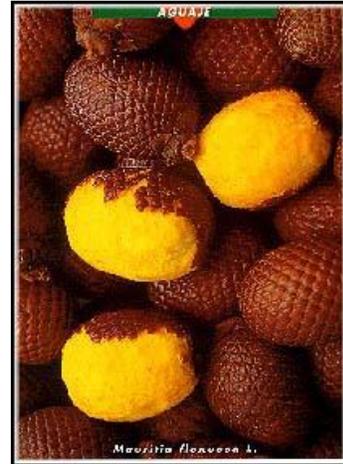


Figura 4. Frutos de aguaje

Otras partes de la planta

El aguaje es una especie de uso múltiple. De las hojas se obtienen fibras para uso doméstico y artesanía; las hojas se usan directamente en el techado de viviendas rústicas; del pecíolo se obtiene pulpa para papel. Las inflorescencias jóvenes se cortan o amarran para coleccionar savia dulce que se consume directamente fermentado como bebida alcohólica o se hierve para obtener azúcar (92,7% sacarosa, 2,3% azúcares reducidos, 1,9% ceniza), (URREGO, 1987).

El estípote o tallo se utiliza como puente. De la médula del tronco se obtiene harina comestible con alto contenido de almidón; en las palmas caídas o tumbadas y en pudrición proliferan larvas denominadas "suris" (*Rhynchoporus palmarum*) de consumo humano crudos, asados o cocinados. (MEJIA, 1992).

1.5 PRODUCCIÓN Y COSECHA

El aguaje, da inicio a su fructificación entre los 7-8 años después de la plantación, cuando alcanzan una altura de 6-7m; aunque han sido observadas plantas de menor porte que iniciaron la fructificación a partir del 4^{to} año. La fructificación aparentemente ocurre todo el año, con mayores concentraciones entre los meses de febrero-agosto y relativa escasez los meses de setiembre-noviembre.

El momento óptimo de cosecha del racimo, es cuando los frutos adquieren una coloración marrón más intenso y los frutos se desgajan fácilmente. La cosecha del fruto en los sistemas naturales sin manejo, es de la planta derribada y en sistemas manejados, se utilizan subidores o plantas de apoyo para alcanzar los racimos y cortar con machete. También, se utilizan varas largas provistas de ganchos que desgajan los racimos y los frutos se recolectan manualmente del suelo. La producción en sistemas naturales, se estima en 6,1 TM/ha en el Perú y 9,1 TM/ha en Colombia; bajo cultivo, en plantaciones de monocultivo de 100 palmas/ha, se obtiene 19 TM/ha con promedio de 190 kg/planta por año (IIAP, 2006).

1.6 CONSERVACIÓN Y VALOR NUTRITIVO DEL FRUTO

Los frutos del aguaje son perecibles, cuando están maduros, después de la cosecha pueden conservarse sin deterioro hasta 7 días. El mesocarpo preparado en pasta puede conservarse en refrigeración o congelamiento; puede también deshidratarse y reconstituirse en bebidas.

La pulpa del aguaje, es el alimento más nutritivo de los frutos del trópico, en la tecnología de los alimentos el término secado se refiere a la desecación natural, como la que se obtiene exponiendo la fruta a la acción del sol, y el de deshidratación designa el secado por medios artificiales, como una corriente de

aire caliente. En la desecación por congelación o liofilización, se someten alimentos congelados a la acción del vacío en una cámara especial hasta lograr la sublimación de la mayor parte de su contenido en agua. La eliminación del agua ofrece una excelente protección frente a las causas más comunes de deterioro de los alimentos. Los microorganismos no pueden desarrollarse en un medio carente de agua, la actividad enzimática es casi inexistente y la mayoría de las reacciones químicas se retardan de forma importante. La verdura, la fruta, la carne, el pescado y otros alimentos cuyo contenido en agua puede llegar hasta un promedio del 80% de media, pueden secarse hasta una quinta parte de su peso y alrededor de la mitad de su volumen original (SOTERO, 2006). Para la pulpa de aguaje la eliminación de agua alcanza 53.6% de agua de muestra fresca, conservando mayor cantidad de β -caroteno 1062 mg/100g vitamina A natural cinco veces mas que la zanahoria, siendo el cuadro N° 1, el que presenta la composición de carotenos y tocoferoles de los morfotipos de aguaje. Color, Amarillo y Shambo, (VÁSQUEZ, 2008).

Cuadro N° 1.

Concentración de β - caroteno y α - tocoferol de los morfotipos color, amarillo y shambo

Morfotipos	β - caroteno (mg/100g)	α - tocoferol (mg/L)
Color	26,4	685,81
Amarillo	34,2	677,58
Shambo	28,4	683,35

Fuente: Vásquez (2008)

1.7 MINERALES Y MICRONUTRIENTES QUE SE ENCUENTRAN PRESENTES EN EL FRUTO

Los nutrientes, son compuestos que forman parte de los alimentos, los obtenemos por medio del proceso de la digestión y son importantes para un correcto funcionamiento de nuestro metabolismo. Los nutrientes se clasifican en: "macronutrientes" (proteínas, lípidos, hidratos de carbono), aquellos que se encuentran en mayor proporción en los alimentos y que además nuestro organismo necesita en cantidades mayores, y "micronutrientes" (vitaminas y minerales), que se encuentran en concentraciones mucho menores en los alimentos y de los que también el organismo necesita cantidades menores para su funcionamiento.

Los minerales, son micronutrientes inorgánicos que el cuerpo necesita en cantidades o dosis muy pequeñas; entre todos los minerales suman unos pocos gramos, pero, son tan importantes como las vitaminas, y sin ellos nuestro organismo no podría realizar las amplias funciones metabólicas que realizamos a diario, la síntesis de hormonas o elaboración de los tejidos. Constituyen sólo el cinco por ciento de la masa corporal y de los 28 existentes sólo una docena es considerada esencial

Los micronutrientes, clásicamente considerados como compuestos esenciales para la vida humana, comprenden 13 vitaminas y unos 16 minerales. Tanto vitaminas como minerales no son sintetizados por el organismo humano (o en algunos casos sí pero en cantidades insuficientes), por lo tanto, depende de la alimentación para obtenerlos, siendo en general una buena fuente para la mayor parte de ellos las frutas y hortalizas. Los micronutrientes, son esenciales para el correcto crecimiento y desarrollo del organismo humano, la utilización metabólica de los macronutrientes, el mantenimiento de las adecuadas defensas frente a enfermedades infecciosas, Así como de muchas otras funciones metabólicas y fisiológicas (KIIRK, SAWYER, EGAN, 1996)

En el cuadro N° 2: se muestra el valor nutricional de minerales que se encuentran presentes en tres morfotipos de la pulpa fresca de aguaje, obtenidas por (VÁSQUEZ, 2008)

Cuadro N° 2

Valor nutricional de minerales encontrados en tres morfotipos de la pulpa fresca de aguaje (*Mauritia flexuosa* L. f)

MINERALES	AMARILLO mg/100g	COLOR mg/100g	SHAMBO mg/100g
Zn	0,58	0,70	0,90
Ca	137,79	89,14	132,49
Cu	0,28	0,69	0,43
Na	8,18	9,20	20,76
Mg	44,12	44,08	98,61
Mn	10,96	7,72	6,62
K	390,36	312,31	660,81
Fe	1,18	0,55	0,83

Fuente: Vásquez (2008)

CAPÍTULO II

DESCRIPCIONES QUE SE DETERMINARÁN EN LA MATERIA PRIMA

2.1 PRO VITAMINA

2.1.1 Diferencia entre vitamina y pro-vitamina

La vitamina, es una sustancia que el cuerpo necesita, pero no la produce, y la pro vitamina, es una sustancia precursora de la vitamina, le falta algo para transformarse en vitamina, y ese proceso lo hace el hombre.

El organismo, constantemente reemplaza las células viejas y gastadas por otras nuevas y se necesita la vitamina A, para producir células sanas de reemplazo. La única forma de obtenerla es por medio de alimentos de origen animal como el huevo, el hígado, pollo, leche y productos lácteos que contienen retinoles de forma natural. Pero, se descubrieron otras maneras de obtener esta vitamina y fue comiendo alimentos de origen vegetal, que contengan carotenos, los carotenos pertenecen a la familia de los carotenoides de los vegetales. El organismo, es capaz de transformarlo en vitamina A, en el intestino delgado. Posee conjuntamente las propiedades de la vitamina A y de los antioxidantes que actúan sobre los radicales libres (RODRIGUEZ, 1999).

2.1.2 Distribución y estado natural

Los carotenoides, se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal, en bacterias y muy pocos se han reportado en animales (por ejemplo, los colores rojizos de las plumas del flamenco, son debidos a la cantaxantina, un carotenoide) y particularmente, invertebrados marinos como las esponjas. Estrellas de mar, pepinos de mar, erizos de mar y otros.

En los animales superiores, el β -caroteno es un requerimiento dietario esencial, pues, es precursor de la vitamina A. Se conocen más de 600 carotenoides, y se

les encuentra en forma libre, como ésteres de ácidos grasos o como Glicósidos. Sin embargo los Glicósidos carotenoides son muy raros, (ejemplo es la crocina). Los carotenoides, se encuentran principalmente en partes aéreas de las plantas, especialmente en hojas, tallos y flores, en frutos (tomate, pimentón, etc) y en menor proporción en raíces (la zanahoria) (MENDOZA, 2003)

2.1.3 Los retinoides y los carotenoides tienen actividad de vitamina A

Los α , β y δ carotenos, así como, la criptoxantina, son los carotenoides pro vitamina A más importantes por su cantidad. Aunque pareciera que una molécula de β -caroteno, produce dos de retinol, en la práctica no sucede así; 6 μ g de β -caroteno equivalen a 1 μ g de retinol preformado. Por ende, la cantidad total de vitamina A, en los alimentos se expresa en microgramos de equivalentes de retinol. El β -caroteno y otros carotenoides, precursores de la vitamina A, se dividen en la mucosa intestinal por acción del **caroteno dioxigenasa**, con lo que se obtiene retinaldehído, el cual se reduce a retinol, se eterifica y se secreta en los quilomicrones junto con ésteres formados con el retinol de la dieta. La actividad intestinal del caroteno dioxigenasa es baja, por lo que un alto porcentaje del β -caroteno ingerido aparece sin cambios en la sangre.

A pesar de que el sitio principal de acción de la dioxigenasa de caroteno, es el enlace central del β -caroteno, también puede ocurrir una ruptura asimétrica, lo que conduce a la formación de 8', 10', 12'- apocarotenales, los cuales se oxidan hasta ácido retinoico pero no pueden utilizarse como fuentes de retinol o de retinaldehído (HARPER, 2002).

2.1.4 Conversión de β -caroteno en vitamina A

Los carotenoides, se dividen en dos grupos principales: **carotenos y xantofilas**. Ambos tipos son pigmentos insolubles en agua de amplia distribución en la naturaleza, aunque son más abundantes en las plantas y las algas. Los carotenos, son hidrocarburos puros, mientras que las xantofilas, son derivados que contienen oxígeno. Los primeros son más abundantes y los únicos que se estudiarán.

El carotenoide más común, es el β -caroteno (*figura 5*). Es un hidrocarburo C_{40} formado por una cadena insaturada, muy ramificada, que contienen estructuras anulares sustituidas idénticas en cada extremo. Prácticamente, todos los demás carotenoides pueden considerarse variantes de esta estructura. Tiene gran importancia en el rompimiento enzimático simétrico del β -caroteno, en dos moléculas de vitamina A. En los animales, esta conversión representa una de las principales fuentes naturales de esa vitamina.

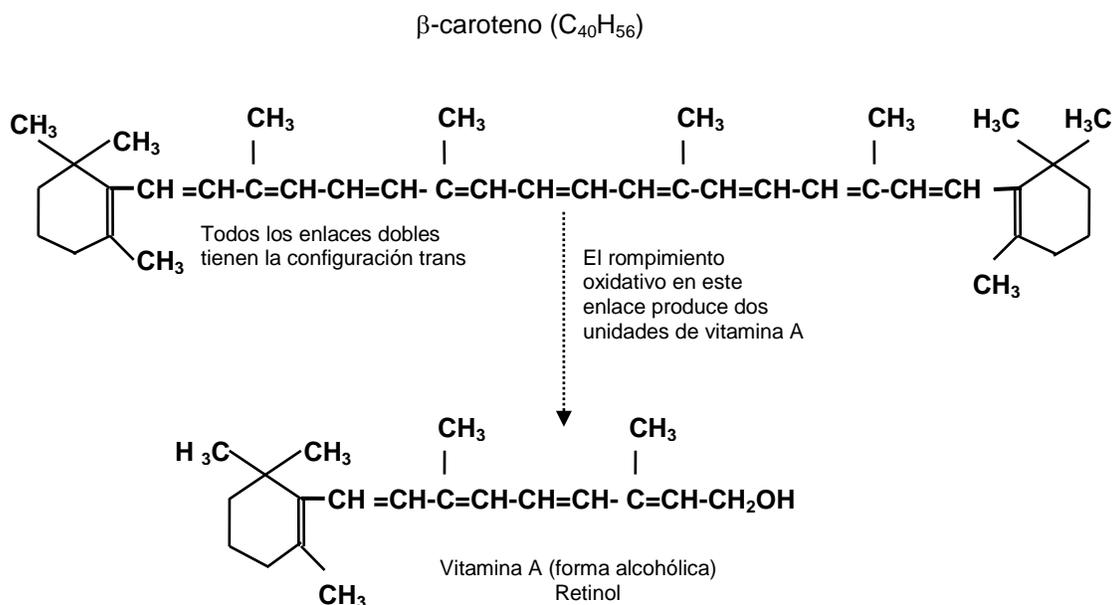


Figura 5. Representación estructural del β -caroteno en vitamina A

2.1.5 El β - caroteno

En los productos animales, la vitamina A, de la alimentación, existe como ésteres de retinol de ácidos grasos de cadena larga. En los vegetales, la vitamina de la alimentación existe como una pro vitamina en forma de β -carotenos, los cuales son pigmentos amarillos, los ésteres de retinol son hidrolizados dentro de la luz intestinal y absorbida directamente en los intestinos. Los β -carotenos, ingeridos (figura 6), son desdoblados por la vía oxidativa mediante el β -caroteno dioxigenasa. Este desdoblamiento utiliza oxígeno molecular y requiere sales biliares y lecitina in vitro, para formar 2 moléculas de retinaldehído (retinol).

También, en la mucosa intestinal, el retinaldehído, es reducido por medio de una reductosa específica que utiliza NADPH, para formar retinol. Una pequeña fracción del retinol formado a partir del β -caroteno, es oxidada a ácido retinoico en el mismo intestino. El ácido retinoico es absorbido a través del sistema porta y por lo general no se acumula en el hígado o en otros tejidos. El ácido retinoico puede ser metabolizado a compuestos más polares y excretado en la orina y en la bilis (HARPER, 2002)

El retinol absorbido es esterificado nuevamente con ácidos grasos saturados de cadena larga, incorporando a los quilomicrones de la linfa y entonces penetra del torrente sanguíneo. Por último, los ésteres del retinil son hidrolizados y esterificados nuevamente como palmitato de retinil para ser almacenados en las gotas de los lípidos hepáticos.

El retinol almacenado es movilizado del hígado por hidrólisis de su éter y por fijación del retinol a la proteína fijadora de esporetinol, la cual es sintetizada en el hepatocito. Así el complejo retinol-proteína fijadora, llamado proteína fijadora de holoretinol, entra en circulación y libera el retinol a los tejidos blancos (HARPER, 2002)

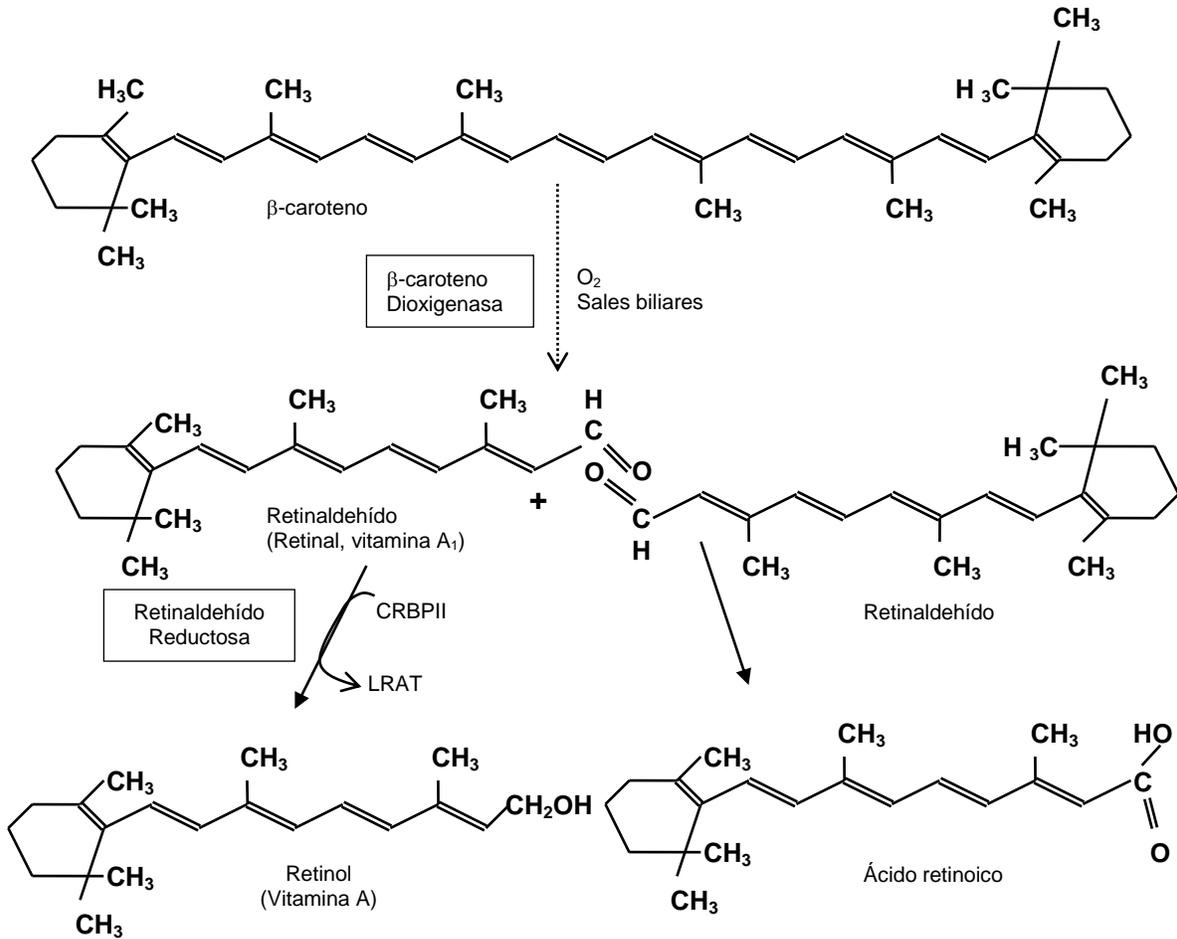


Figura 6. El β -caroteno y su división a retinaldehído, reducción a retinol y la oxidación a ácido retinoico.

2.1.6 Actividad biológica

Es conocido que los carotenoides de las frutas y verduras de la dieta son la principal fuente de vitamina A. La molécula de β -caroteno, se parte en dos moléculas de vitamina A (retinol), proceso que ocurre en el intestino y en el que participa un complejo enzimático dioxigenasa (*Figura 7*). Cualquiera de los carotenoides que posean el anillo β no sustituido, característico del β -caroteno, es precursor de la vitamina A. Por ejemplo α -caroteno, β , β -caroteno-5,6-epóxido y β -criptoxantina (ORTIZ, 2003)

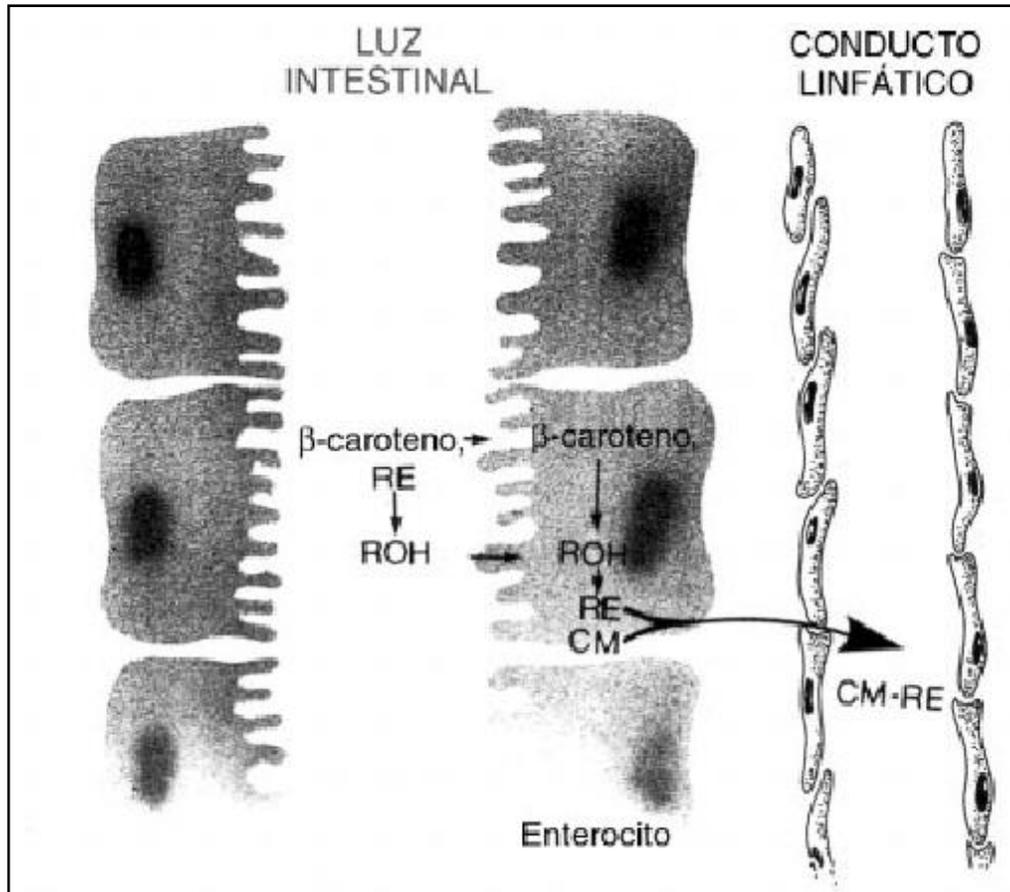


Figura 7. Absorción de vitamina A preformada y pro vitamina A del intestino delgado. RE = éster de retinilo; ROH = retinol; CM= quilomicron (BLOMHOFF, 1994).

Los carotenoides de pro vitamina A, pasan inalterados a las células de la mucosa. Una parte de cada uno, junto con los carotenoides que no son pro vitamina, pasa inalterada a la linfa y a la sangre. El resto experimenta la división de la molécula por una enzima 15,15'-dioxigenasa específica dentro de la célula de la mucosa intestinal. Este proceso también puede tener lugar dentro del hígado y algunos otros tejidos (GOODMAN, *et. al.* 1966).

La división simétrica de la molécula de β -caroteno, produce dos moléculas de retinal, el cual se reduce y esterifica a éster de retinilo en gran medida. Parte de la división es asimétrica y produce menos retinal (*Figura 6*). En la práctica, el β -caroteno y otros carotenoides de pro vitamina A, tienen sólo una fracción de la actividad del retinol. El retinol, es esterificado dentro de las células de la mucosa antes de ser incorporado a los quilomicrones (*Figura 7*). En este proceso, un tipo específico de Proteína Celular Fijadora de Retinol (conocida como CRBP II por sus siglas en inglés) transporta el retinol liposoluble a través de los medios acuosos y lo entrega a la enzima Lecitina: Aciltransferasa de Retinol (conocida como LRAT por sus siglas en inglés) (MACDONALD, *et. al* 1987). Esta parece ser la enzima intestinal principal, que esterifica normalmente el retinol y luego lo entrega a los quilomicrones.

El uso biomédico de los carotenoides está fundamentalmente dirigido a la producción de vitamina A. Sin embargo, actualmente se investiga el potencial del licopeno, la luteína y la zeaxantina, en la prevención de enfermedades como el cáncer y la enfermedad coronaria. Algunos estudios recientes son:

- El β -caroteno, suplemento en la dieta ha mostrado alguna evidencia de acción antitumoral en ratas. Las bastaditas aisladas de esponjas marinas presentan acción antitumoral, contra el cáncer de la piel y en leucoplasias orales (ORFANOS, 1981).
- El vesanoideo, es un derivado de la vitamina A que presenta acción citotóxica, y es usado par el tratamiento de leucemia promielocítica aguda (ORFANOS, 1997).

2.1.7 Importancia

Las vitaminas, son sustancias orgánicas, de naturaleza y composición variada. Imprescindibles en los procesos metabólicos que tienen lugar en la nutrición de los seres vivos. No aportan energía, ya que no se utilizan como combustible, pero sin ellas el organismo no es capaz de aprovechar los elementos

constructivos y energéticos suministrados por la alimentación. Normalmente, se utilizan en el interior de las células como antecesoras de las coenzimas, a partir de las cuales se elaboran los miles de enzimas que regulan las reacciones químicas de las que viven las células. Su efecto consiste en ayudar a convertir los alimentos en energía. La ingestión de cantidades extras de vitaminas, no eleva la capacidad física, salvo en el caso de existir un déficit vitamínico (debido, por ejemplo, a un régimen de comidas desequilibrado y a la fatiga). Entonces, se puede mejorar dicha capacidad ingiriendo cantidades extras de vitaminas. Las necesidades vitamínicas varían según las especies, con la edad y con la actividad. En cuanto a la vitamina A y al retinol, sus diversas funciones que desempeñan en el organismo es la siguiente:

- **Sistema óseo**: es necesaria para el crecimiento y desarrollo de huesos.
- **Desarrollo celular**: esencial para el crecimiento, mantenimiento y reparación de las células de las mucosas, epitelios, piel, visión, uñas, cabello y esmalte de dientes.
- **Sistema inmune**: contribuye en la prevención de enfermedades infecciosas, especialmente del aparato respiratorio creando barreras protectoras contra diferentes microorganismos. Estimula las funciones inmunes, entre ellas la respuesta de los anticuerpos y la actividad de varias células, producidas por la médula ósea, que interviene en la defensa del organismo como fagocitos y linfocitos. Por ello, promueve la reparación de tejidos infectados y aumenta la resistencia a la infección.
- **Sistema reproductivo**: contribuye en la función normal de reproducción, contribuyendo a la producción de espermatozoides. También, al ciclo normal reproductivo femenino. Debido a su rol vital en el desarrollo celular, la vitamina A, ayuda a que los cambios que se producen en las células y tejidos durante el desarrollo del feto, se desarrollen normalmente.
- **Visión**: es fundamental para la visión. El Retinol contribuye a mejorar la visión nocturna, previniendo de ciertas alteraciones visuales como cataratas,

glaucoma, pérdida de visión, ceguera crepuscular ,también ayuda a combatir infecciones bacterianas como conjuntivitis.

- **Antioxidante:** previene el envejecimiento celular y la aparición de cáncer, ya que al ser un antioxidante natural elimina los radicales libres y protege al ADN de su acción mutagénica

2.2 CÁPSULAS

Las cápsulas son masas sólidas o semisólidas de gelatina, principalmente y que se utilizan para administrar polvos, suspensiones o líquidos. El material de las cápsulas es de gelatina, glicerina y agua, sirven para enmascarar sabores, colores desagradables, presentan una más rápida absorción en el estómago.



Figura 8. Cápsulas de aguaje liofilizado

También, se puede obtener una desintegración a diferentes intervalos de tiempo dependiendo de la preparación de gránulos. De los riesgos en la preparación de cápsulas son el evitar la humedad o el uso de materiales higroscópicos, (*Figura 8*). Es decir, que absorben agua, y las condiciones de almacenamiento que deben ser en lugares secos y frescos (MARTIN N. A, 1970).

Las cápsulas se clasifican de acuerdo a su tamaño por números:

000 00 0 1 2 3 4 5

GRANDES

CHICAS

Atendiendo a su mayor producción y mejor conocimiento se describe la disponibilidad por las cuales son conocidas y comercializadas:

- Cápsulas grandes de 000 y 00 son conocidas como jumbo
- Cápsulas normal de 0, 1, 2 y 3 son conocidas como estándar
- Cápsulas pequeñas de 4 y 5 son conocidas como chicas

Cápsulas duras

Formadas por dos piezas cilíndricas abiertas en uno de sus extremos y cuyo fondo es semiesférico.

Tamaño	Volumen (mL)	Masa (mg)
000	1,00	810 a 1620
00	0.95	570 a 1140
0	0,60	400 a 816
1	0,50	300 a 600
2	0,37	222 a 444
3	0,30	180 a 360
4	0,21	126 a 252
5	0.11	72 a 144

Cápsulas blandas

Sus paredes son más gruesas y pueden estar plastificadas mediante un agregado de poli alcohol como sorbitol o glicerina. (www.wiquipedia.es).

Ventajas:

Las cápsulas poseen más ventajas si se comparan con las tabletas, ya que se desintegran más rápidamente en presencia de los líquidos gástricos. Quizá la única desventaja sea el que puede presentarse un tiempo de absorción variable. Hoy en día una multitud de fármacos, como vitaminas, antibióticos, etc., se administran en forma de cápsulas (www.wikipedia.es).

Usos:

Las cápsulas de gelatina, son conocidas universalmente por sus aplicaciones en la industria farmacéutica. Lo que generalmente no se sabe, es que hay aplicaciones en un amplio espectro para cápsulas vacías de gelatina, en numerosos campos, bien fuera de la industria farmacéutica. En verdad, hemos observado que hay una clara dicotomía de las aplicaciones, las cápsulas de gelatina más pequeñas han sido utilizadas en microscopía e histología y los tamaños más grandes "jumbo" son más utilizados para empaque

Atendiendo a la envoltura se distinguen:

CÁPSULAS AMILÁCEAS

CÁPSULAS DE GELATINA

Siendo la última clasificada en:

√ Cápsulas blandas

√ Cápsulas duras

2.2.1 CÁPSULAS AMILÁCEAS

En su composición entra el almidón, de varios tipos: maíz, arroz, trigo y agua salada. También reciben el nombre de sellos o discos.

Tamaño de las cápsulas amiláceas que son utilizadas en la producción de su comercialización

000 00 0 1 2 3. No se debe utilizar el tamaño grande porque debido a su tamaño se produce dificultad para la deglución, en la medida de lo posible conviene emplear el más pequeño para facilitar la ingestión.

2.2.2 CAPSULAS GELATINOSAS

El componente fundamental es la gelatina, normalmente la gelatina se obtiene por hidrólisis de tejidos colagénicos de origen animal, de pieles o huesos.

- √ Cápsulas blandas: Las blandas, tienen plastificante en la formulación de la cubierta. El plastificante, puede ser la gelatina o el sorbitol al 70%, son compuestas por gelatina, plastificante y agua; todo ello, en proporciones variables. Su concentración dependerá de la consistencia de la masa: la presencia de agua quita consistencia a la masa, el plastificante le da elasticidad. La elasticidad de la cubierta permite que el volumen de la cubierta sea mayor o menor.
- √ Cápsulas duras: Las duras, no contienen plastificante, por lo cual, dentro su formulación contienen gelatina y agua.

Tamaños disponibles en su utilización

000 - 00 - 0 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5. El tamaño, estará condicionado por el volumen de polvo a distribuir y número de cápsulas a preparar, el volumen de polvo dependerá de la formulación, principalmente del principio activo.

2.3 ESTABILIDAD

Capacidad de un producto de mantener las especificaciones señaladas y aceptadas en la monografía de un principio activo o de un producto farmacéutico, que aseguren sus propiedades físicas, químicas y microbiológicas dentro de límites especificados. Su estudio se basa en realizar una serie de pruebas relacionadas con las características físicas, químicas, biológicas y microbiológicas de un principio activo o un producto farmacéutico para obtener información sobre su estabilidad, a fin de definir su período de eficacia en determinadas condiciones de envase y almacenamiento (ISPC, 1995).

MELENDEZ *et. al*, 2004; investigaron la estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos, el cual evaluaron los efectos que intervienen en la estabilidad de carotenoides como degradación de un principio activo; debido a su estructura, cambios químicos inducidos por las distintas condiciones de procesamiento o factores que intervienen en la degradación del compuesto, los cuales conlleva una disminución de su valor nutritivo, expresan lo siguiente:

√ **Efecto de la oxidación**

La degradación de los carotenoides, se debe fundamentalmente a reacciones de oxidación, ya sean no enzimáticas o debidas a enzimas como las lipoxigenasas, y se presenta generalmente, durante el secado de frutas y vegetales. Los primeros datos que existen sobre oxidación de carotenoides, son los de COLE Y KAPUR (1957), quienes conjugan las variables oxígeno y temperatura en la degradación del licopeno.

La interacción de los carotenoides con algunos constituyentes de los alimentos, que ejerce un efecto protector contra dichas reacciones, de tal forma que se oxidan más rápidamente cuando se extraen del fruto en estado puro o se purifican. Es decir, la intensidad de la oxidación de los carotenoides

depende de si el pigmento se encuentra in vivo o in vitro y de las condiciones ambientales.

También, el ozono, influye en la estabilidad de los carotenoides. En un interesante ensayo se comprobó el efecto que una corriente continua de agua saturada de oxígeno y ozono a 30°C, ejercía sobre una serie de carotenoides (todo *trans* β -caroteno, 9-*cis*- β -caroteno, β -criptoxantina y licopeno), adsorbidos en fase sólida (C₁₈). Se comprobó que aproximadamente el 90% de todo-*trans*- β -caroteno, 9-*cis*- β -caroteno y β -criptoxantina, se perdía después de 7 horas de exposición al ozono. Una pérdida de licopeno cuantitativamente similar, se producía en sólo 1 hora. Cuando los citados carotenoides fueron sometidos a la acción del oxígeno, todos, a excepción de la β -criptoxantina, se degradaban a menor velocidad. En este estudio la mayor velocidad de degradación corresponde al licopeno, y la menor al 9-*cis*- β -caroteno (licopeno > β -criptoxantina > todo-*trans*- β -caroteno > 9-*cis*- β -caroteno).

En los últimos años, MELENDEZ, *et. al.*, (2004), han realizado una serie de estudios que confirman que la encapsulación de carotenoides los hace más manejables y estables frente a la oxidación.

√ **Efecto de la composición lipídica**

Los carotenoides, pueden sufrir oxidación acoplada en presencia de lípidos a velocidades que dependen del sistema. El estudio de la velocidad de degradación de carotenoides esterificados y no esterificados del pimiento rojo, indicó que el que se degrada a menor velocidad, es capsorrubina, seguido de zeaxantina, capsantina y β -caroteno. Asimismo, se comprobó que capsantina y capsorrubina y sus ésteres se degradaban a la misma velocidad, mientras que los ésteres de zeaxantina se degradaban más rápido que el pigmento libre, presumiblemente debido a que dicho pigmento está esterificado principalmente por el ácido graso poliinsaturado linolénico

En otro interesante estudio, se evaluó el comportamiento de clorofila α y β -caroteno durante tratamientos térmicos en sistemas modelo de lípidos, la tasa de degradación de ambos pigmentos, fue mayor en metil estearato, seguida por metil oleato y metil linoleato, es decir, la reacción entre el carotenoide y los radicales libres se minimiza en presencia de metil linoleato, posiblemente debido a la mayor reactividad de éste con el oxígeno.

No obstante, en otra investigación se llegó a la conclusión contraria, es decir, que el β -caroteno es más inestable que el ácido linolénico y, por tanto, puede proteger a éste durante tratamientos térmicos (RODRIGUEZ – AMAYA, 1992)

√ **Efecto de la estructura**

Las diferencias de estabilidad entre los distintos carotenoides están influenciadas por su estructura individual. La reactividad de estos pigmentos en reacciones de captación ("scavenging") de radicales, en general, disminuye al disminuir el número de dobles enlaces coplanares y debido a la presencia de grupos hidroxilos y carbonilos. La reactividad, por tanto, disminuye de los carotenos a los hidroxicarotenoides y de estos a los cetocarotenoides. La configuración geométrica de los carotenoides, implica también, diferencias en cuanto a estabilidad de los mismos. En un sistema modelo acuoso el todo-*trans*- β -caroteno, es ligeramente más sensible al ozono que el 9-*cis*- β -caroteno. Sin embargo, en presencia de oxígeno, éste último isómero, es bastante menos sensible a la oxidación.

Se ha sugerido que la mayor reactividad de la molécula *cis*, en relación con los radicales libres es debida a una mayor interferencia estérica entre las dos partes al otro lado del doble enlace *cis*, aunque en la actualidad, no existe una explicación aparente de estas discrepancias (RODRIGUEZ – AMAYA, 1992)

√ **Efecto de la temperatura**

La influencia de la temperatura, en la estabilidad de los pigmentos es clara; tanto para reacciones anhidras como hidratadas, siempre actúa como acelerador de la reacción de degradación. Por lo general, los carotenos con mayor actividad biológica, son aquellos que tienen todos sus dobles enlaces en forma del isómero *trans*, que se transforman parcialmente en la forma *cis*, durante tratamientos térmicos en ausencia de oxígeno. Esta reacción de isomerización, se puede efectuar durante el proceso de esterilización de productos enlatados, con lo que se pierde parte del poder vitamínico de los carotenos.

BAO Y CHANG (1994), revelan que la degradación del β -caroteno y licopeno debida a diferentes condiciones de calentamiento, sigue una cinética de primer orden. Debido a su importancia nutricional como fuente de carotenos, muchos de los estudios de estabilidad de estos compuestos se han realizado en zanahorias y productos derivados. En algunos de estos estudios se ha evaluado el impacto del escaldado, empleado para inactivar la lipoxigenasa, en el contenido de los carotenoides. La influencia de este tratamiento en los niveles de α - y β -caroteno, en la pulpa y en el zumo de zanahorias ha sido objeto de estudio.

√ **Efecto de la luz**

La acción intensa de la luz sobre los carotenos induce su ruptura con la consiguiente formación de compuestos incoloros de bajo peso molecular. Estas reacciones tienen mucha importancia en la industria alimentaria ya que los carotenos pierden, además de su función biológica de pro vitamina A, su color característico. Para RODRIGUEZ - AMAYA (1997) que estudió la relación existente entre la pérdida de pigmentos, la exposición a la luz y la presencia de ácidos grasos, encontrándose que la instauración de los ácidos grasos protege en estas condiciones a los pigmentos. Existen estudios que

demuestran que la degradación del β -caroteno debida a la iluminación con luz fluorescente sigue un modelo de primer orden, favoreciendo dicha iluminación la formación de 13,15-di-*cis*- β -caroteno. (BAO Y CHANG, 1994)

√ **Efecto del pH**

Aunque los carotenoides extraídos o no son relativamente resistente a valores de pH extremos, los ácidos y álcalis pueden provocar isomerizaciones *cis/trans* de ciertos dobles enlaces, reagrupamientos y desesterificaciones, lo cual debe ser tenido en cuenta a la hora de manipularlos en laboratorio con fines analíticos.

No obstante, volviendo a la estabilidad de los carotenoides en los alimentos, hay que tener en cuenta que los epoxycarotenoides son muy inestables en medio ácido, lo cual tiene una gran importancia, debido a la acidez inherente de algunos alimentos en particular.

Por ejemplo este hecho es conocido tanto en la elaboración de zumos como en vegetales fermentados, donde las condiciones ácidas del proceso promueven algunas conversiones espontáneas de los grupos 5,6 y 5',6'-epóxidos a 5,8 y 5',8'-furanoides (Figura 9). En un reciente estudio se ha sugerido que el importante cambio en el perfil de carotenoides del mango como consecuencia del procesado, puede ser debido a estas reacciones. En este estudio se observó que mientras que en la fruta fresca el principal carotenoide era violaxantina, en el producto procesado como zumo dicho carotenoide no se detectaba, aunque sí era apreciable la cantidad de auroxantina, no presente en la fruta fresca. Este hecho podría explicarse como consecuencia de la conversión de los grupos 5,6-epóxido de la violaxantina en 5,8-furanoides de la auroxantina, posiblemente debido a la liberación de ácidos orgánicos del mango durante el procesado industrial.

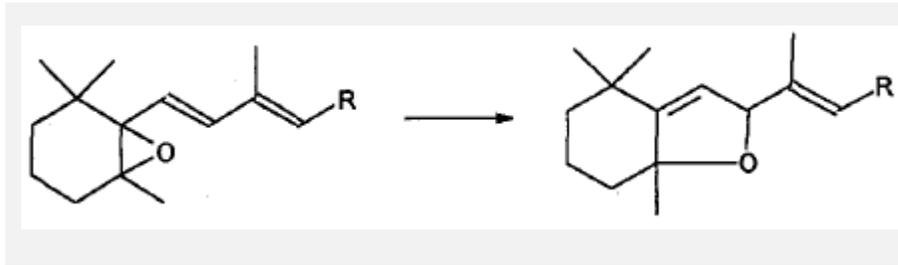


Figura 9. Conversión de carotenoides 5,6 - epóxidos en 5,8 - furanoides. Estas isomerizaciones también se han descrito en los procesos fermentativos que tienen lugar en el procesado de las aceitunas.

√ Efecto del almacenamiento

Por otro lado, el efecto del almacenamiento sobre los carotenoides va a depender, indudablemente, de las condiciones en las que se lleve a cabo. Para RODRIGUEZ – AMAYA (1997), en un interesante estudio ha evaluado los cambios que tienen lugar en α -caroteno, β -caroteno y luteína cuando se mantienen en la oscuridad a diferentes temperaturas (4°C, 25°C y 45°C) y cuando se almacenan a 25°C expuestos a la luz. Para ello utilizaron carotenoides en polvo liofilizados, obtenidos a partir de zanahorias. Los resultados revelaron que los niveles de la forma toda-*trans* de estos tres carotenoides disminuían al aumentar la temperatura de almacenamiento o el tiempo de iluminación.

Evaluaron la estabilidad de α - y β -caroteno en polvo de zanahoria encapsulado en diferentes tipos de almidón hidrolizado, comprobando que la degradación de los carotenos estudiados, como consecuencia del almacenamiento a temperaturas comprendidas entre 37°C y 65°C, seguía una cinética de primer orden. No todos los tipos de almidón hidrolizado empleados para encapsular el producto, fueron igual de eficientes, comprobándose que el de 36,5 equivalentes de dextrosa mejoraba la retención de carotenos en comparación con el resto (4, 15 y 25 equivalentes

de dextrosa). Los resultados del estudio muestran que la encapsulación aumentaba la vida media del producto a 21°C entre 70 y 220 veces, en función del tipo de almidón empleado. En cuanto al efecto de la luz, se observó que la retención de los carotenos estudiados en las muestras expuestas a la luz y en la muestra mantenida en la oscuridad tras ocho semanas era prácticamente la misma, sugiriéndose que la degradación de carotenos en polvo de zanahoria encapsulado se debía fundamentalmente a procesos de auto oxidación (WAGNER Y WARTHESEN, 1995)

Evaluaron la evolución de clorofilas a y b, b -caroteno y luteína, en judías verdes frescas y escaldadas y en pimientos de Padrón almacenadas durante un año a -22°C. En las judías verdes, no escaldadas se comprobó que los niveles de los pigmentos disminuían sensiblemente durante el primer mes de almacenamiento, estabilizándose después, aunque en el caso del b -caroteno también hubo pérdidas durante el segundo mes antes de la estabilización. En el caso de las judías escaldadas, los resultados fueron similares, si bien la retención de carotenoides fue mayor debido a la inactivación de la lipoxigenasa como consecuencia del escaldado. En cuanto a los pimientos de Padrón, los niveles de los pigmentos estudiados permanecieron más o menos constantes a lo largo de todo el estudio. (ORUÑA-CONCHA *et al*, 1997).

Estudiaron la cinética de degradación de los carotenoides del azafrán, principalmente crocinas, encapsulados en tres matrices diferentes, pululan y dos polivinilpirrolodonas (PVP), PVP40 y PVP360, comprobando que la encapsulación los protegía de la oxidación. Las crocinas, son carotenoides hidrosolubles, por lo que los ensayos se realizaron a diferentes actividades de agua y en la oscuridad a 35°C. Los resultados del estudio indicaron que la encapsulación con PVP40, era la que reducía en mayor medida la velocidad de oxidación en todas las condiciones de almacenamiento ensayadas. (SELIM *et al*- 2000).

Estudiaron la relación existente entre la retención de vitamina C y la estabilidad de los pigmentos presentes en el zumo de naranja, durante su almacenamiento por 7 semanas a 4,5°C. Para ello, emplearon muestras de zumo de naranja de la variedad Moro, de color rojizo debido a la presencia de pigmentos antocianos (polifenoles) y carotenoides. Comprobaron que la degradación de la vitamina C estaba correlacionada linealmente ($r > 0.93$), con la pérdida de antocianos. En el caso de los carotenoides, se observó que las pérdidas eran menos sensibles que en el caso de los antocianos, debido al efecto estabilizante de la vitamina C, que protege a los carotenoides de procesos oxidativos. (CHOI *et al* - 2002).

2.4 SECADO O DESHIDRATACIÓN

Cuando se menciona acerca de secar una sustancia, se piensa invariablemente en la eliminación de agua. Para realizar esta operación, es imprescindible tener en cuenta en primer lugar, la naturaleza de las fuerzas que mantienen al agua unida a la sustancia de la cual se desea eliminar. Así, puede hablarse de eliminar humedad, o agua de inclusión o de hidratación y hasta de constitución. Es obvio, que cuanto más fuertemente se encuentre asociada el agua, más enérgicas deberán ser las condiciones para eliminarla (MELO, 2005)

En la deshidratación por liofilización, se someten alimentos congelados a la acción del vacío en una cámara especial hasta lograr la sublimación de la mayor parte de su contenido en agua. La eliminación del agua, ofrece una excelente protección frente a las causas más comunes de deterioro de los alimentos.

Los microorganismos no pueden desarrollarse en un medio carente de agua, la actividad enzimática es casi inexistente y la mayoría de las reacciones químicas se retardan de forma importante. Esta última característica hace que la deshidratación se prefiera al envasado, si el producto ha de almacenarse a temperaturas elevadas. Para obtener esta protección, es necesario eliminar la mayor parte del agua. A continuación hay que empaquetar el alimento en recipientes a prueba de humedad para impedir que absorban agua del aire. Por ello, se utilizan a menudo latas herméticas para el envasado de productos deshidratados. Estas latas, ofrecen la ventaja adicional de ser inmunes a agentes destructores externos, como el oxígeno, la luz, los insectos y los roedores (GEANKOPLIS – 1998).

2.5 LIOFILIZACIÓN

Como todos sabemos, según la temperatura, una sustancia cualquiera tiene tres estados: sólido, líquido y gaseoso. Si queremos convertir el agua en gaseosa (vapor), la tenemos que hervir o por lo menos dejarla reposar largo tiempo para que <<se seque>>, espontáneamente. Si queremos que un pedazo de hielo se derrita, le aplicamos el calor ambiental o lo calentamos para acelerar su licuación. La liofilización, consiste en sacarle el agua a una sustancia congelada, saltándonos el pasaje por el estado líquido: se congela una solución acuosa de la sustancia química que deseamos liofilizar y, a esa baja temperatura, que impide cambios químicos de deterioro, se le somete a un alto vacío, que hace pasar el agua del estado sólido al estado gaseoso, sin pasar por el estado líquido. Es una forma de secar un producto químico a temperaturas bajísimas, sin el deterioro que produciría el recalentamiento.

El secado con congelación, o liofilización, es la sublimación de agua a partir de hielo operando a vacío elevado y a temperaturas inferiores a 0°. Esto se realiza en secadores especiales de bandejas, para secar vitaminas y otros materiales sensibles al calor.

Se usa generalmente, en la preparación comercial de antibióticos, de algunas vacunas y de muchos productos vegetales alimenticios y saborizantes. Es un proceso de congelación - desecación (freeze-drying) (GEANKOPLIS, 1998).

2.5.1 Operaciones unitarias en la liofilización

√ Operación Unitaria

Una operación unitaria, es cada una de las acciones necesarias de transporte, adecuación y/o transformación implicadas en un proceso químico (*Figura 10*). Las operaciones unitarias poseen técnicas comunes y se basan en los mismos principios científicos. (GEANKOPLIS, 1982)

√ Proceso Químico

Un proceso químico, es un conjunto de operaciones químicas y físicas ordenadas para la transformación de materias iniciales, en productos finales diferentes.

√ Procesos / Operaciones

En cada proceso / operación unitaria, se cambian las condiciones de una determinada cantidad de materia, de una o más de las siguientes formas:

- Modificando su masa o composición
- Modificando el nivel o calidad de la energía que posee

- Modificando sus condiciones de movimiento

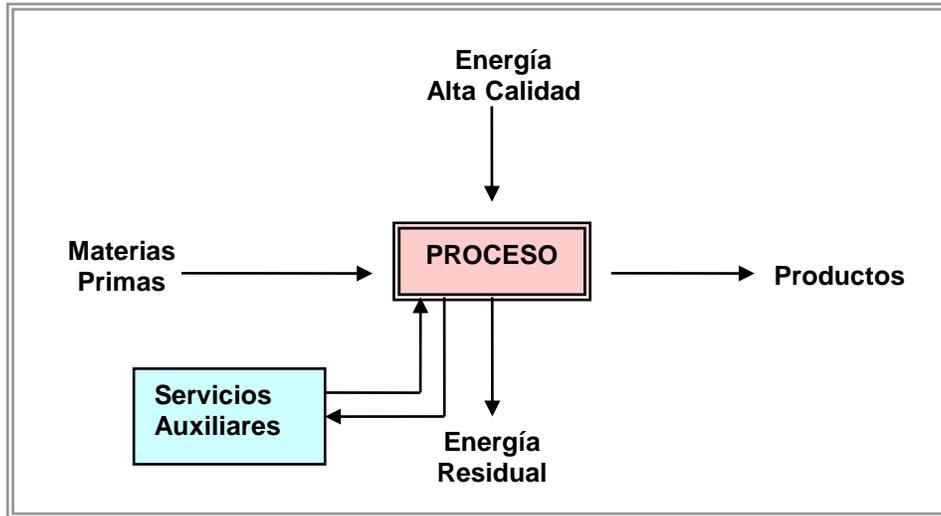


Figura 10. Procesos / operaciones que se da en la liofilización

MELO (2005); cada operación unitaria tiene una fuerza impulsora, un gradiente en alguna propiedad, que da cuenta del mecanismo principal de transferencia.

2.5.2 Ciclo de liofilización

La liofilización, es una operación esencialmente cíclica, que se desarrolla siguiendo una serie de etapas. Es importante la selección y preparación del alimento antes de su secado por congelación, sólo pueden utilizarse materias primas de calidad. También es importante el almacenamiento del producto liofilizado, antes de su rehidratación y uso. En la (*figura 11*), aparecen las diferentes etapas del proceso, desde la preparación inicial del producto hasta su reconstitución y uso. En las etapas específicas del proceso de liofilización, se indica la variación de la temperatura durante el ciclo típico.

2.5.3 Congelación del producto

Con el fin de conseguir una estructura porosa en los alimentos secados por liofilización, se deben formar antes del secado muchos cristales pequeños. En una situación ideal, el producto debe ser congelado hasta la condición de concentración (congelación máxima). En este punto, se ha formado la mayor fase de volumen de hielo y el material que permanece sin congelar, tiene el contenido de agua más bajo posible. En este caso, se puede eliminar por sublimación la mayor cantidad de agua.

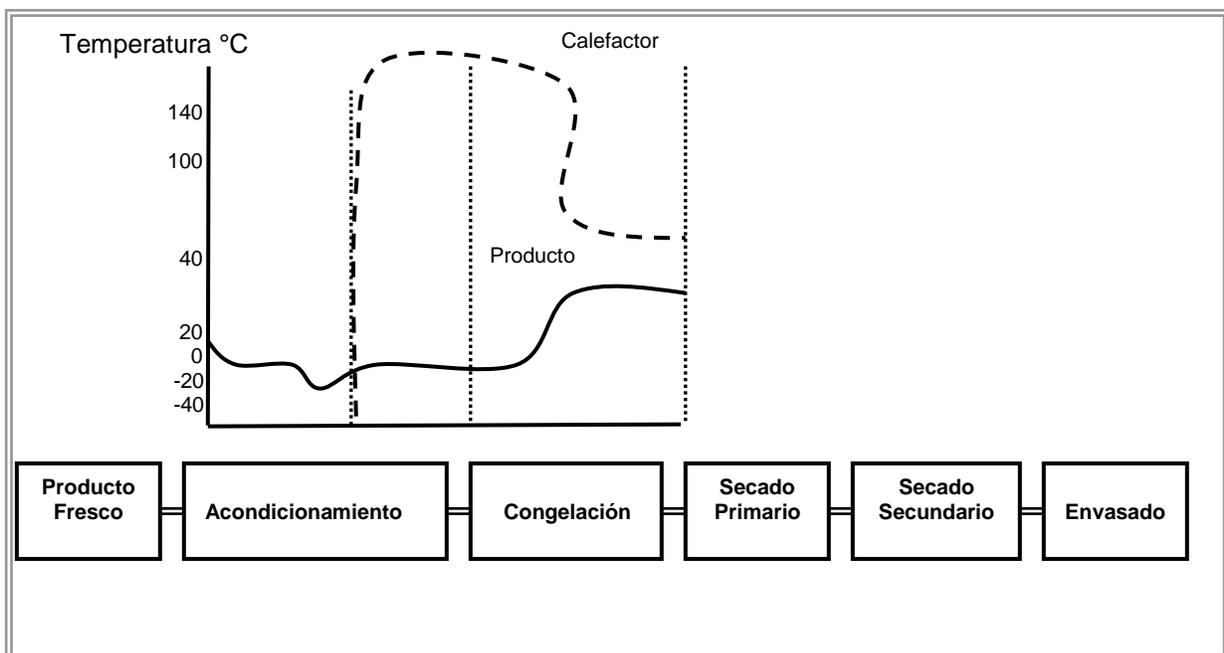


Figura 11: ciclo que presenta un producto en la liofilización

2.5.4 Transferencia de masa y de calor en la liofilización

En ingeniería la liofilización es muy utilizada (ANCASI *et. al.*, 2005) por sus favorables ventajas que presenta en cuanto a su utilización como producto final, es por ello, que dentro del proceso se observa el método de desecación que se produce, mientras se elimina el agua por congelación del producto húmedo (Figura 12); la transferencia que existe al suministrar calor el hielo

sublima y se evita el paso por la fase líquida. Dentro del mismo, se detalla los pasos que se ejecutan:

√ Transferencia de calor por convección

El proceso más común de liofilización, se basa en que los gases que rodean al material suministran a la superficie del sólido, el calor de sublimación necesario. Después, el calor se transfiere por conducción a la superficie congelada.

El flujo específico de calor a la superficie del material, se verifica por convección, y una vez en el sólido seco, por conducción hasta la superficie de sublimación. El flujo de calor a la superficie es igual al que pasa por el sólido seco, suponiendo un estado pseudo estacionario.

√ Transferencia de calor por conducción

La transferencia de calor por conducción en la liofilización, se basa en la ley de Fourier, que nos menciona que la transferencia de calor por conducción, está en relación directa al área de transferencia y a la diferencia de temperaturas del medio y del alimento (para este caso); y en relación indirecta a la distancia que recorrerá el calor en el alimento.

√ Transferencia de masa

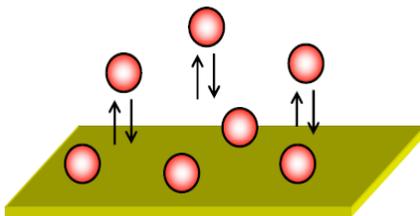
La transferencia de masa, se produce desde el frente de sublimación, a través del producto seco, hacia la superficie donde el vapor es eliminado por el vacío. La estructura del producto seco determina, en gran medida, la cantidad de humedad transferida durante la liofilización.

la especie o variedad del producto. La madurez fisiológica y la historia del producto, junto con la manera en que se obtuvo el equilibrio (adsorción o desorción), también influyen en la humedad de equilibrio.

El contenido de humedad de equilibrio de un material higroscópico, en determinadas condiciones de temperatura y humedad relativa de equilibrio, depende del camino que se siga para alcanzar el equilibrio. Así, para una misma humedad relativa, puede haber dos isotermas, denominadas isotermas de adsorción y de desorción, obtenidas en función de las condiciones experimentales iniciales. Esto, porque el material puede presentar un contenido de humedad menor o mayor que la humedad de equilibrio para las condiciones del ambiente. Este fenómeno se llama histéresis. (BELITZ, 1982)

Termodinámica de la adsorción: En termodinámica el uso de las isotermas se expresan como moléculas en fase gaseosa que tienen mayor entropía que adsorbidas en la superficie de un sólido (CHIRALT, 2007).

2.6.1 Descripción de isotermas de adsorción en fisicoquímica



El grado de adsorción se mide en función de la cobertura fraccional, θ :

$$\theta = \frac{\text{n}^\circ \text{ de sitios de adsorción ocupados}}{\text{n}^\circ \text{ de sitios de adsorción posibles}}$$

También se lo define como:

$$\theta = \frac{V}{V_\infty} = \frac{\text{volumen de gas adsorbido}}{\text{Volumen de gas correspondiente a cubrir toda la sup.}}$$

Suponga que:

- 1) La adsorción no ocurre más allá de la primera capa de cobertura
- 2) Todos los sitios de adsorción son equivalentes y la superficie uniforme

3) La capacidad de una molécula de adsorberse es independiente de las otras moléculas adsorbidas.

2.6.2 Modelos de equilibrio higroscópico

La ecuación de Kelvin, se aplica solamente a las humedades relativas superiores a 95% y la ecuación de Langmuir, no se aplica a productos alimenticios. La ecuación de BET y la versión que presenta Rounsley permiten estimar la parte de agua adsorbida en relación con el total de agua ligada. Las ecuaciones de BET, Harkins-Jura y Rounsley, ofrecen resultados aceptables solamente para valores de humedad relativa inferiores a 30%. La ecuación de Henderson y la de Chung-Pfost son las que mejor expresan el contenido de humedad de equilibrio en gamas más amplias de temperatura y humedad relativa. Las modificaciones empíricas mejoraron sustancialmente dichas ecuaciones y las hicieron aplicables a una mayor parte del abanico de temperaturas y humedades relativas. (BOQUET *et. al*, 1978).

Brunauer - Emmet y Teller (BET).

Su ecuación describe muy satisfactoriamente los distintos tipos de isothermas encontradas experimentalmente.

$$\frac{a}{M(1-a)} = \frac{1}{M_1 C} + \frac{a(C-1)}{M_1 C}$$

Donde:

a = Humedad relativa de cada desecador

M = Contenido en agua del producto (g/100 g materia seca)

M_1 = Contenido en agua correspondiente a la capa monomolecular (g/100g de materia seca)

C = Constante energética, relacionada al calor de adsorción de la primera capa de agua.

Con la ayuda de ecuación se pueden calcular M_1 y C según M y a determinados experimentalmente; para ello se lleva $\frac{a}{M(1-a)}$ a ordenadas y a

a abscisas; se obtiene así una recta, que en la intersección con el eje de ordenadas y la pendiente da, respectivamente, los valores de $\frac{1}{M_1 C}$ y de $\frac{C-1}{M_1 C}$

Genéricamente los modelos de sorción de tipo multicapa que se considerarán están resumidos en la figura 1, tomada de [8]. La figura presenta el modelo para la isoterma de Langmuir, de BET, de

GAB y de tss, así como los modelos restringidos correspondientes, caracterizados por la letra adicional r en la sigla general XXXr.

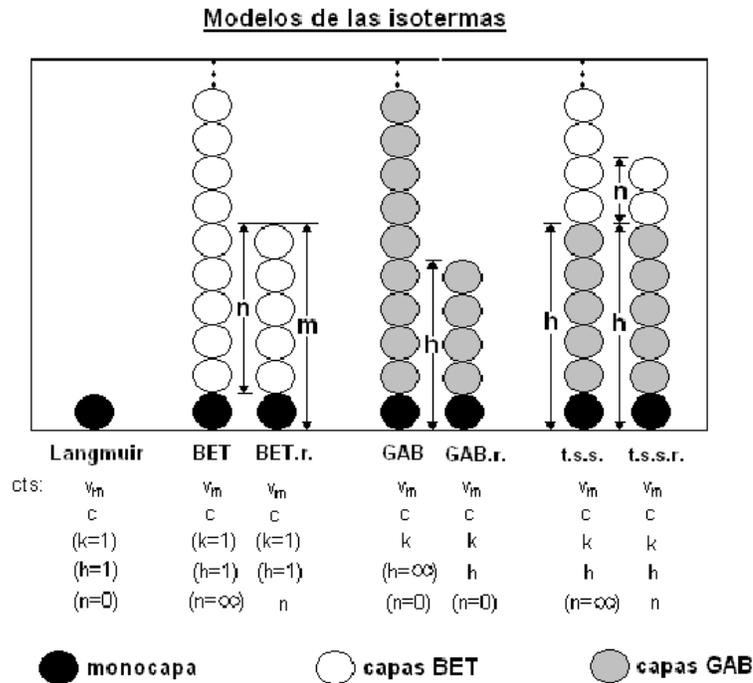


Fig .13. Esquema comparativo de las isotermas de sorción (ZUG,2002)

Fig(1). Esquema comparativo de las isotermas de sorción que surgen del modelo de sorción de multicapas Langmuir-Brunauer. [8]

2.6.3 Actividad de agua

La actividad del agua (a_w), es considerada la propiedad más importante del agua en un sistema alimenticio. A través de la historia, el hombre se ha reconocido la importancia de controlar el agua en los alimentos, para lo cual ha utilizado el secado, el congelado o la adición de sales y azúcares con fines de preservación y control de la calidad de los mismos. Existen dos tipos básicos de análisis de agua. El primero es el contenido de agua, el cual es una determinación cuantitativa o volumétrica de la cantidad total de agua presente en

un alimento. El segundo tipo mide la actividad del agua e indica la fuerza con la que el agua está atada, estructural o químicamente, a un alimento (FENNEMA, 1990)

La actividad del agua, es un concepto termodinámico refiriéndose a una condición de equilibrio, describe la situación de energía del agua o el grado en que está “atada”, en un producto alimenticio y, por lo tanto, su habilidad de actuar como solvente y participar en reacciones químicas y bioquímicas y en el crecimiento microbiano. Cuando se deshidrata un alimento, por ejemplo, no sólo disminuye su contenido de agua sino que disminuye la disponibilidad de esta agua. En este caso, disponibilidad se refiere a que, aunque un alimento posea una cantidad de agua, esta puede no estar disponible para reacciones bioquímicas o microbiológicas. Una forma de expresar esta disponibilidad, es mediante el término actividad de agua.

Por analogía, así como, el pH es un término que indica el grado de acidez de un alimento, la actividad de agua a_w , es un término que se emplea para indicar la disponibilidad del agua (ROCKLAND *et. al*, 1981). La actividad del agua se representa como la relación entre la presión de vapor del aire alrededor de un alimento (p) y la presión de vapor del agua pura (p_0), ambos permaneciendo a una misma temperatura. De manera práctica, esto es la humedad relativa del aire en equilibrio con una muestra contenida en una cámara sellada de medición. Multiplicando la a_w por 100, se obtiene la humedad relativa de equilibrio (ERH), de la atmósfera en equilibrio con el alimento.

Estas ecuaciones se representan así:

$$a_w = p/p_0 = \%ERH/100$$

Con un máximo valor de 1,0 Cuando se disuelven otras sustancias en agua pura, el valor de la a_w disminuye; lo mismo sucede cuando a un alimento se le retira parte del agua. Si esta disminución, es en un porcentaje elevado, el

alimento adquiere un valor de a_w relativamente bajo y se le podrá denominar alimento de humedad intermedia.

Aunque el concepto de actividad del agua, sólo se aplica a sistemas en equilibrio, y la mayoría de productos alimenticios no son sistemas en equilibrio, su aplicación en el marco de tiempo experimental y de estimación de vida de anaquel es una herramienta útil.

2.6.4 Formas de manejar la a_w

Debido a que hongos, levaduras y bacterias, requieren cierta cantidad de agua disponible para crecer, al igual que muchas reacciones químicas y bioquímicas para ocurrir, su desarrollo puede limitarse con la reducción de esta agua. Una forma de lograr este objetivo es a través de los procesos térmicos severos, los cuales usan además las propiedades letales del calor, mientras que procesos como la deshidratación o la liofilización, trabajan sólo por disminución de la a_w .

Otro método, involucra la atadura del agua libre por la adición de solutos, usualmente azúcares o cloruro de sodio. Esto crea un desbalance en la presión osmótica, con lo cual se extrae agua de las células y tejidos. El desarrollo de productos encuentra nuevos retos para mantener niveles suficientemente bajos de a_w con el uso de los sustitutos de grasa disponibles hoy en día. La grasa, la cual no contribuye agua libre, es reemplazada con agua o un gel para proveer lubricación. Estos geles, no reducen la a_w , por lo que se requieren métodos adicionales de control para revertir el deterioro. Cuando una sustancia es agregada a un producto para reducir la a_w , el resultado puede ser complicado. Idealmente, la sustancia debe reducir la a_w , sin ningún otro efecto, como el incremento en la fuerza iónica y/o la disminución de la tensión superficial, por lo que la adecuada selección de dicha sustancia es muy importante. (BADUI, 1981)

¿Por qué es importante?

Para muchos productos alimenticios, la actividad del agua es una propiedad muy importante. Predice la estabilidad de los alimentos con respecto a sus propiedades físicas, la velocidad de las reacciones de deterioro y el crecimiento microbiano, influenciando la vida de anaquel, el color, olor, sabor y consistencia de los mismos

Con la determinación de la actividad del agua de los alimentos, es posible predecir qué microorganismos pueden causar deterioro y enfermedades, por lo que se considera una importante propiedad desde el punto de vista de inocuidad alimentaria. El control de la a_w , es también una forma importante de mantener la estabilidad química de los alimentos; ejerce un fuerte efecto sobre las reacciones de pardeamiento no enzimático y las de oxidación lípida autocatalítica. La actividad del agua, puede además, jugar un papel clave en la actividad enzimática y vitamínica en los alimentos, así como en propiedades físicas como textura y vida en estante de los mismos. Su utilidad e importancia como medida de la calidad y la inocuidad de los alimentos, fue reconocida cuando resultó obvio que el contenido de humedad no reflejaba exactamente las fluctuaciones en el crecimiento microbiano. El concepto de a_w , ha servido al microbiólogo y al tecnólogo en alimentos durante dos décadas, como el criterio de calidad e inocuidad más exacto y utilizado. Recientemente la a_w , como parámetro fisicoquímico, ha sido discutido principalmente sólo en dos disciplinas: la fisicoquímica y la microbiología de alimentos. En la primera, mide la energía libre termodinámica del agua, mientras que en la segunda, la actividad del agua es utilizada para definir los límites inferiores para el crecimiento de microorganismos en alimentos.

2.6.5 Medición de la Actividad del Agua

No existe instrumento alguno en el que pueda colocarse directamente un producto para medir su actividad de agua. Sin embargo, la actividad de agua de un producto puede determinarse a partir de la humedad relativa del aire alrededor de la muestra cuando el aire y la muestra alcanzan el equilibrio. Por lo

tanto, la muestra debe colocarse en un espacio cerrado, en donde dicho equilibrio ocurrirá. Cuando esto ocurre, la actividad del agua de la muestra y la humedad relativa del aire son iguales; la medición realizada en el equilibrio se llama humedad relativa en equilibrio, o ERH.

Aunque existen métodos a nivel de laboratorio para determinar la actividad del agua, comercialmente existen principalmente dos tipos de instrumentos para tal propósito. Uno, utiliza la tecnología de espejo enfriado en punto de rocío, mientras que el otro mide la humedad relativa con sensores que cambian la resistencia eléctrica o capacitancia. Ambos métodos poseen ventajas y desventajas, varían en exactitud, reproducibilidad, velocidad en la medición, estabilidad en la calibración, linealidad, costo y conveniencia de uso.

2.6.6 Relación entre la Actividad de Agua y la Humedad relativa en equilibrio (HRE)

La HRE, se refiere estrictamente a la atmósfera en equilibrio con una solución o alimento y constituye una expresión menos apropiada que la a_w , como forma de medir el agua disponible.

La HRE, como la a_w , es la relación entre la presión de vapor de la solución y la del agua pura pero expresadas en porcentaje.

2.6.7 Relación entre la Actividad de Agua y el contenido de agua

La relación entre la composición de un alimento y su a_w , es bastante compleja. Para conocer esta relación lo habitual es determinar los valores de la a_w del alimento a diferentes concentraciones de agua, los que se representan gráficamente con el fin de obtener la isoterma de sorción de agua.

Los factores que reducen la presión de vapor de agua en los alimentos y, por tanto, la a_w son la adsorción de las moléculas de agua a las superficies, las fuerzas capilares y las sustancias disueltas que se han mencionado anteriormente. Normalmente, se acepta que el primer ascenso de la isoterma representa la adsorción del agua formando una monocapa de moléculas en los lugares de adsorción del producto sólido. Al añadir más agua, la isoterma crece rápidamente a medida que los solutos se disuelven y se llenan los espacios capilares. Estos fenómenos se solapan, y algunos pueden no estar representados en la isoterma. Puede no verse la monocapa en los alimentos que contienen poco material estructural, si las fuerzas capilares tienen poca influencia. (*Figura 13*).

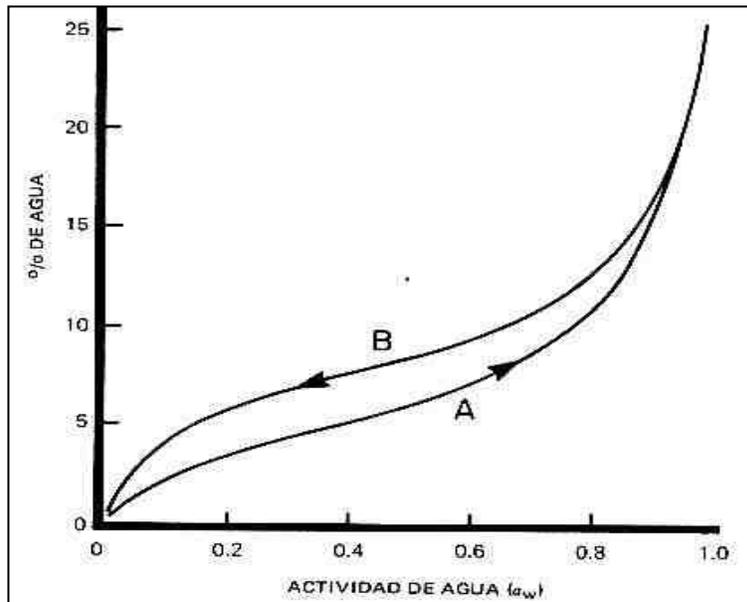


Figura 13. Isotermas de desorción de agua en la que se muestra la histéresis.
Curva A: adsorción; Curva B: desorción.

2.6.8 Relación entre la Actividad de Agua y la Temperatura

La actividad de agua, depende de la temperatura dado, que ésta influye también sobre la presión de vapor de agua de las soluciones pero el efecto es pequeño con la mayoría de los solutos, salvo que las soluciones sean saturadas. En tales

casos, las cantidades de algunas sustancias de la solución, y por tanto la a_w , pueden variar marcadamente con la temperatura. A temperaturas inferiores a las del punto de congelación, de una solución o alimento, la presión de vapor del agua líquida disminuye al descender la temperatura. La a_w , de una solución o alimento congelados es función de la temperatura presentando un valor de 0,953 a $-5\text{ }^\circ\text{C}$; de 0,907 a $-10\text{ }^\circ\text{C}$; de 0,864 a $-15\text{ }^\circ\text{C}$ y de 0,823 a $-20\text{ }^\circ\text{C}$. (SCOTT, 1962) ha estudiado los límites del crecimiento microbiano en un medio congelado en relación con la temperatura y la a_w .

2.7 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Los antioxidantes, son sustancias que detienen o previenen una cadena de propagación oxidativa, mediante la estabilización del radical generado (radical libre). Nuestro organismo posee antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, para protegerse de estos radicales, sin embargo, otra fuente muy importante de ellos son las plantas, y precisamente el estudio de estos compuestos es prioritario por su rol en la protección del cuerpo humano, en contra de un número considerable de enfermedades degenerativas, las evidencias experimentales sugieren que protegen de manera importante las funciones biológicas de las células en contra de la actividad de los radicales libres (CANTU, 2001).

2.7.1 Antioxidantes

Cada célula de nuestro organismo, posee naturalmente, los mecanismos necesarios para compensar la acción de los radicales libres. Pero, con la edad o bajo condiciones de stress, estos protectores celulares naturales (antioxidantes), disminuyen en su concentración celular.

¿Pueden los antioxidantes contribuir a reducir el riesgo de las afecciones ligadas al envejecimiento?

A partir de los 50 años, comenzamos a preocuparnos por nuestro envejecimiento y por las patologías, que pueden asociarse con este proceso. Una dieta balanceada ha sido siempre la llave para una buena salud. Actualmente, estudios científicos están apuntando cada vez más a los potenciales beneficios para la salud, de algunos nutrientes específicos.

Existen investigaciones muy promisorias sobre el rol que ejercen determinados nutrientes en disminuir los riesgos de desarrollar enfermedades asociadas al envejecimiento (BLOMHOFF, 1994)

En los últimos años, instituciones científicas, como el Research Center of Aging de USA, han conducido investigaciones sobre la Vitamina C, E y A entre otros nutrientes asociados entre sí en dosis terapéuticas. Las evidencias demuestran, que asegurando una correcta ingesta de Vitamina C, E y Betacarotenos en la dieta, se reducen los riesgos de desarrollar ciertas enfermedades como cataratas, cáncer y afecciones cardio-vasculares.

Desde ya, un estado de buena salud, además de la correcta nutrición, depende de otros factores, muchos de los cuales pueden ser manejados como: el hábito de fumar, el control del stress, la práctica metódica de ejercicios y el control médico periódico.

Hay buenas razones para disminuir los riesgos de enfermedades crónicas, utilizar alimentos ricos en Vitamina C, E y Betacarotenos, puede ser un recurso.

2.7.2 Las vitaminas y los antioxidantes esenciales

El envejecimiento celular, no es sólo genético, influyen en ese proceso cantidad de factores ambientales a los que se los denomina "calidad de vida". Por otro lado, la adecuada y correcta alimentación, mas la exposición a sustancias químicas del medio ambiente son también determinantes para dicho proceso.

En líneas generales, se sabe que la restricción alimentaría (comer poco pero balanceado) prolonga la vida, mientras que las dietas hipercalóricas la acortan.

El tema alimentario, es un factor muy importante para prevenir el envejecimiento, ya que a través de lo que comemos aportamos naturalmente los antioxidantes.

Pero, aquellas personas que carecen del tiempo necesario para incorporar diariamente las dosis adecuadas de vitaminas, a través de los alimentos, deberán optar por las ofertas que ofrecen los laboratorios y que sustituyen esas necesidades básicas.

Hoy es posible discriminar, cuál es la función que cada una de las vitaminas cumple en nuestro organismo; a saber:

- La **vitamina E**: Retrasa el envejecimiento celular, ocasionado por la oxidación, es decir, que defiende a las células de la acción de los radicales libres oxidantes y previene enfermedades crónicas.
- La **vitamina C**: retrasa trastornos del envejecimiento y actúa sobre el sistema inmunitario.
- **Beta carotenos**: Actúa combinado con las vitaminas C y E, para mantener el nivel de actividad de las células y cumple una función depurativa de los oxidantes en las células.
- **Selenio**: Tiene efectos anticancerígenos, protege el corazón y elimina algunos tipos de virus.
- **Zinc**: Refuerza el sistema inmunitario y lucha contra el envejecimiento en todas sus formas.
- **Magnesio**: Ayuda a prevenir los trastornos cardíacos.

Se deberían incluir diariamente todas estas vitaminas, para que los llamados radicales libres, se mantengan controlados en el organismo y no produzcan envejecimiento prematuro, alteraciones celulares (cáncer), problemas cardiovasculares, neurológicos u oculares. Muchos de estos productos suplementarios, bajo la apropiada prescripción y supervisión médica, pueden ingerirse en forma de cápsulas o tabletas.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LOCALIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Las muestras de frutos de aguaje, fueron recolectadas en las comunidades de Aucayo, Libertad y Centro Unión, ubicadas en la cuenca baja del río Amazonas, Distrito de Fernando Lores, Provincia de Maynas, en la región Loreto. Se recolectaron manualmente, en estado pintón, evidenciado por el color, firmeza al tacto del fruto, y ausencia de daños, después de recolectadas los frutos se separan del racimo (*Figura 14*). Se lavaron con abundante agua limpia, para remover los residuos y la tierra que recogen durante la cosecha.



Figura 14. Racimo de aguaje después de la recolección

3.2 PREPARACIÓN DEL MATERIAL

Después del proceso de adecuación, se procede al tratamiento de maduración el cual consiste, en sumergir los frutos completamente en agua limpia a una temperatura de 60 °C, durante un lapso de 4 a 6 horas, aproximadamente (*Figura 15*). Este tratamiento, es eficiente, ya que en los frutos, que se van

ablandando, se separan con facilidad los componentes (pulpa-corteza del endospermo y la semilla).



Figura 15. Tratamiento de maduración de frutos de aguaje

El despulpado de los frutos, se realiza en forma manual, obteniéndose finalmente la separación entre masa pulpa – corteza y los residuos que constituyen el endodermo y la semilla. En este proceso, el rendimiento en 10 frutos grandes y pequeños es de 54,98 g y 24,18 g de masa pulpa-corteza respectivamente.

3.3 MATERIALES DE LABORATORIO

- Desecadores
- Pinzas metálicas
- Placas de Petri grandes y pequeñas
- Balón de 250 mL base redonda
- Matraces de diferentes medidas
- Papel de filtro
- Cápsula de porcelana con tapa (crisol)
- Vaso de precipitado de 50,100 mL
- Peras de separación
- Fiolas

02 de 100 mL

- 01 de 10 mL
- Filtros PURADIS 25 AS de 0.45 μm (Whatman)
- Papel aluminio
- Parafilm
- Marcadores
- Bolsas plásticas
- Cuchillos
- Pinza de metal
- Guantes descartables
- Probetas

3.4 EQUIPOS, INSTRUMENTOS Y OTROS

Balanza analítica, mufla (550°C), equipo de extracción Soxhlet, estufa, digestor Kjeldahl, cocina eléctrica, destilador simple, termómetros de mercurio (0°C a 100°C), equipo de absorción atómica, espectrofotómetro UV/vis.

3.5 REACTIVOS Y DISOLVENTES

Agua destilada, Hexano, Butanol, Etanol de 96%, cloruro de litio, acetato de potasio, Cloruro de sodio, Nitrito de sodio, Hidróxido de sodio, sulfato de potasio, cloruro de magnesio, ácido clorhídrico 6N, 3N y 0.3N, Cloruro de lantano al 10%, 1,1-difenil-2-picrihidrazil (DPPH).

3.6 METODOLOGÍA

3.6.1 Determinación de peso del fruto por liofilización

El aguaje, después de haber sido despulpado, fue sometido al método de desecación-congelación, donde las muestras tratadas, fueron previamente congeladas a temperatura bajo cero, antes de ser sometidas al proceso, cada una fue previamente pesada, ocurriendo el proceso de deshidratación en un

equipo LABCONCO de 4,5 L, trabajando al vacío a una temperatura de -50 °C.

3.6.2 Determinación de humedad de equilibrio experimental

Existe dos métodos para la obtención experimental de contenidos de humedad de equilibrio: el estático y el dinámico. En el método estático, las muestras se colocan en recipientes con humedad relativa y temperatura controladas, hasta que alcancen el equilibrio higroscópico, sin que haya movimiento de aire.

Las isotermas, se obtienen colocando un alimento cuyo contenido en agua se conoce, bajo vacío, en un recipiente cerrado y midiendo, después del establecimiento del equilibrio a una temperatura determinada, la presión de vapor del agua, con la ayuda de un manómetro o de un higrómetro (o incluso por cromatografía en fase gaseosa). También, se puede obtener colocando muestras de un mismo alimento (seco o húmedo) en una serie de recipientes cerrados, en los cuales se mantienen por ejemplo, mediante soluciones salinas (por lo general saturadas) o ácido sulfúrico de diversas concentraciones a una gama de humedades relativas constante (CHEFTEI, 2000).

De acuerdo a la Official Methods of Analysis (A.O.A.C N° 934.06). Las muestras de aguaje liofilizado, se colocaron en los desecadores con las diferentes soluciones saturadas, se dejaron en un área del laboratorio, dentro de los desecadores hasta alcanzar el equilibrio. Después, de retirar las muestras se llevaron a pesar a una balanza digital marca Sartorius con capacidad de 220 gramos para realizar los cálculos pertinentes y así obtener la humedad en equilibrio, de manera que se puedan construir las isotermas de adsorción lo cual se verificó cuando el peso de las muestras se hizo constante. Se realizaron tres repeticiones de cada punto de las curvas, Las muestras liofilizadas en equilibrio, se llevaron a una estufa marca Autonics, modelo T24ST, para determinar su humedad. (*Figura 16*).

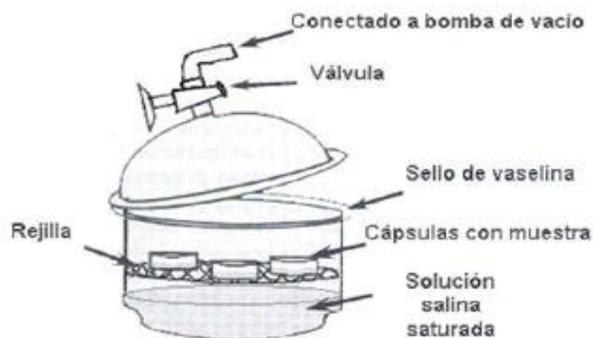


Figura 16. Desecadoras preparadas para el control del medio de humedades relativas constantes con soluciones salinas saturadas.

3.6.3 Determinación de su composición química

Análisis bromatológico

- √ Humedad, Las muestras se colocan en estufa de aire circulante por 8 h. a 105°C, hasta peso constante.
- √ Grasas, Las muestras se obtuvieron por extracción con el aparato de Soxhlet, usando hexano. (ADOLFO LUTZ, 1985)
- √ Proteínas, Las muestras desengrasadas se sometieron a la destilación de nitrógeno mediante la utilización del aparato de Kjendahl, (ADOLFO LUTZ, 1985).
- √ Cenizas, Las muestras se incineraron en mufla a la temperatura de 550°C (ADOLFO LUTZ, 1985).

3.6.4 Análisis de estabilidad

Para la USP23/NF18 Pharmacopeia (1995); realizar el análisis de estabilidad, es determinar el uso, tiempo de vida útil, propiedades y características que posee un producto al momento de su fabricación. Para todo el proceso de investigación y desarrollo, los productos farmacéuticos, son una parte

fundamental de que debe hacerse previamente, que será puesta a disposición de la población, con el fin de determinar el tiempo durante el cual mantiene sus especificaciones de calidad, determinando la estabilidad del producto que dependen principalmente de factores ambientales, tales como Temperatura y Humedad, que juegan un papel muy importante en los resultados que se obtienen sobre las propiedades tanto fisicoquímicas y biológicas; siendo muy importante tomar en cuenta la forma farmacéutica y los envases primario-secundarios.

Para ello, se muestran cinco criterios de estabilidad en la siguiente tabla.

Criterio para los niveles aceptables de estabilidad

Tipo de estabilidad	Condiciones que mantuvieron fija la vida útil del producto.
Química	Cada ingrediente activo retiene su integridad química y la potencia etiquetada, dentro de los límites especificados,
Física	Las propiedades físicas originales, que se presenta apariencia, uniformidad, disolución, que se retienen en la solución y en el paladar, susceptibilidad.
Microbiológica	Se retienen esterilidad o resistencia a crecimiento microbiano según los requisitos especificados. Agentes antimicrobianos que están presentes y retienen efectividad dentro de los límites especificados
Terapéutica	El efecto terapéutico permanece inalterado
Toxicológica	No ocurre ningún aumento significativo en toxicidad

En el desarrollo del análisis sólo se ejecutó las pruebas físicas, químicas y microbiológicas.

3.6.5 Análisis de pro vitamina A y retinol

Por el Método espectrofotométrico se determinó las lecturas de β -carotenos y retinol siendo la preparación de la solución 35 mL de alcohol n-butílico y 15 mL de agua destilada siendo mezcladas para obtener una solución saturada de Alcohol n-butílico. El procedimiento consistió en pesar 1 g de muestra en un matraz de vidrio de 300 mL y añadir 50 mL de alcohol n-butílico saturado se agitó durante 2 minutos y se dejó en reposo por espacio de 20 minutos. A la solución en reposo, se filtró a través de un papel filtro y se procedió a colocar en una cubeta de 1 cm³ con el extracto de la muestra y la otra con el solvente. Léase la absorbancia a 450 nm, efectúe tres lecturas. Para la determinación del Retinol, se procede igual que para la determinación del β -caroteno, con la única diferencia de que las lecturas de la absorbancia tienen que ser a una longitud de onda de 470 nm. (HIGBY, 1962)

Para diferenciar la obtención de las siguientes muestras se describen las fórmulas de la pro vitamina A y del retinol que se muestran en las (Figuras 17 y 18)

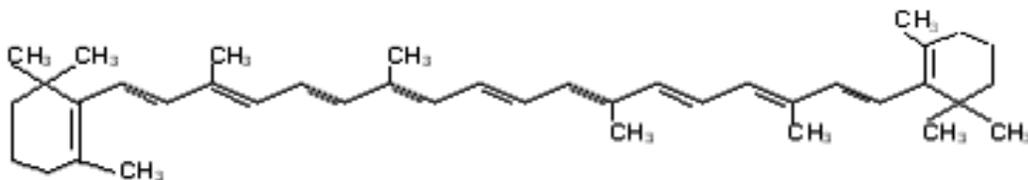


Figura 17. Pro vitamina A (β – caroteno)

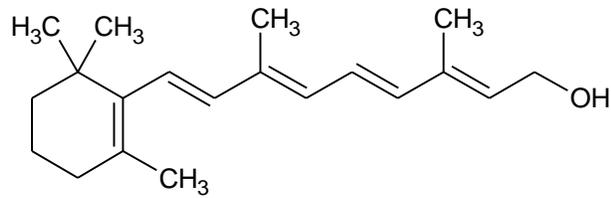


Figura 18. Vitamina A (Retinol).

Cálculos

$$\beta - \text{carotenos mg/100 g de muestra} = (A-B) \cdot 1,57/w$$

$$\text{RETINOL mg/100g de muestra} = (A-B) \cdot 10,90/w$$

Donde:

A = Lectura de la absorbancia de la muestra

B = Lectura de la absorbancia del solvente

W = Peso tomado de la muestra

3.6.6 Micronutrientes minerales

Se utilizó el método de espectrofotometría de absorción atómica, utilizando un equipo marca Varian AA 240, del Laboratorio de Biotecnología del Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana, para determinar: calcio, cobre, hierro, magnesio, manganeso, potasio, sodio y zinc en los productos alimenticios. El procedimiento consistió en las cenizas obtenidas por incineración seca:

- √ A las cenizas se agrega de 5 -10 mL de ácido clorhídrico 6 N, hasta mojarlas totalmente y a continuación desecar cuidadosamente sobre placa caliente a temperatura moderada, luego, se le añadió 15 mL de ácido clorhídrico 3 N y se calienta en el crisol, hasta que la solución comience a hervir, se dejó enfriar y se filtró a través de papel filtro,

hacia un matraz volumétrico, al crisol se lavo tres veces con agua y se filtro, los lavados hacia el matraz.

- √ Si se va a determinar calcio añadir 5 mL de solución de cloruro de lantano, por 100 mL de solución, se enfría y se diluye el contenido del matraz hasta la señal de enrase con agua.(OSBORNE & VOOGT, 1978)

3.6.7 Actividad antioxidante

Los extractos fueron obtenidos por maceración de los tejidos, extracción en metanol. Para evaluar la actividad antioxidante se utilizó el método de reducción del radical 1,1-diphenil-2-picrihidrazil (DPPH), con absorbancia de 515 nm. Los extractos fueron utilizados en las concentraciones siguientes 10000 µg/mL, 3000 µg/mL, 1000 µg/mL y 300 µg/mL como testigo se utilizó la muestra patrón preparada. Se determinó la IC₅₀ (concentración necesaria para inhibir el 50% del radical libre).

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Evaluación química antes del liofilizado

Antes de que las muestras de aguaje fueran liofilizadas, se procedió a realizar el ensayo bromatológico de la pulpa fresca y así, poder comparar si la pulpa al ser liofilizada mantiene sus propiedades y su comportamiento químico. Los ensayos se realizaron por triplicado como se muestra en la (*tabla 1*), donde se observa la concentración de humedad, proteínas, aceites, cenizas y carbohidratos.

Tabla 1: Evaluación química de pulpa de aguaje fresca
Antes de ser liofilizada

Ensayo Bromatológico	Pulpa de aguaje sin liofilizar		
	Amarillo	Color	Shambo
Humedad %	48.34	53.85	59.59
Cenizas %	1.02	1.43	1.28
Aceites %	18.73	34.47	21.54
Proteínas %	2.10	2.36	3,6
Carbohidratos	29.81	8.74	13.94

Fuente: Trabajo de la tesista

La Tabla 1: Indica, que debido a su comportamiento, los morfotipos entre si presentan diferencia relevante. Es decir, que la humedad en cada uno es diferente siendo el morfotipo color quien contiene más humedad y mayor concentración de aceite en comparación a los morfotipos shambo y amarillo; en donde, más destaca el contenido de proteínas es el morfotipo shambo demostrando la diferencia más alta con respecto al morfotipo color; mientras que el contenido inorgánico para los tres morfotipos no presenta mayor diferencia.

4.2 Determinación del peso del fruto por Liofilización

Las muestras de aguaje, antes de ser sometidas al proceso de deshidratación por liofilización, fueron previamente pesadas para determinar el rendimiento que se obtiene cuando se encuentran secas; los resultados experimentales (Tabla 2), donde, se dan los pesos y rendimientos de los tres morfotipos

Tabla 2. Peso de aguaje de pulpa fresca y liofilizada

	Amarillo	Color	Shambo
Peso de inicio kg/g	1366	1782	980
Peso final kg/g	368.6	455.8	250.4
Rendimiento %	26.98	25.58	25.55

Fuente: Trabajo de la tesista

Realizando la regla de tres simple, la diferencia que se obtiene por cada peso es aproximadamente un 25% de muestra, deshidratándose

aproximadamente un 75% de agua contenida en cada morfotipo, observando una buena apariencia al tacto y distinguiéndose la presencia notable física en el color característico en cada uno de ellos. Así como el camu camu; del aguaje puede obtenerse pulpa refinada, liofilizada, atomizada y productos con alto valor agregado como sachets, polvos hidrolizables, complementos vitamínicos, entre otros. (VEGA - 2000); quién determinó los posibles usos que se pueden obtener del camu camu.

Así como se determino de la extracción liofilizada del camu camu el contenido de ácido ascórbico (vitamina C), que se encuentra en la pulpa (GARCÍA,1995); del aguaje al realizar la extracción de la pulpa fresca o liofilizada, se sabe que existe la presencia de carotenos como son: β - caroteno y α - caroteno (pro vitamina A ó vitamina A), α - tocoferol (vitamina E), calciferol, (pro vitamina D ó vitamina D). Esta última, que se obtiene a través de la piel, mediante luz solar, los cuales servirían de mucha ventaja en el consumo y utilización del fruto.

4.3 Humedad de equilibrio experimental

Los datos experimentales obtenidos de las muestras expuestas a la temperatura de libre adsorción, se expresan en las figuras 1,2 y 3, datos reemplazados de las (tablas 3,4 y 5), que indican las constantes halladas y el grado de ajuste encontrado para cada uno de ellos. Estas figuras presentan una relación de humedad en equilibrio de pulpa de aguaje liofilizado con la humedad relativa (HR).

Como se mencionó anteriormente las isotermas de adsorción son útiles para diseñar y controlar los procesos como el almacenamiento, deshidratación, la predicción de la vida útil del producto y de la evolución en el contenido de humedad, entre otros. Según FENNEMA (1993), las

isotermas de adsorción se dividen en tres zonas en función de la actividad de agua, desde la zona I (seca) a la zona III (de alta humedad).

Las isotermas de adsorción del aguaje liofilizado muestra la zona I, donde el agua del fruto es más fuertemente adsorbida y más inmóvil; la a_w va de 0 a 25%. Esta agua no puede intervenir en reacciones como disolvente, tampoco se congela y es difícil de eliminar en deshidratación. Se denomina agua monocapa.

Mediante el empleo de la ecuación de BET y GAB, modelos matemáticos de las isotermas de adsorción se procedió a reemplazar los datos experimentales y aplicarlos a la ecuación para así poder obtener el mejor grado de ajuste que puede poseer cada morfotipo y si existe diferencia alguna entre ellos a través de su comportamiento.

➤ Cálculos para obtener la curva de BET

$$a_w(m(1 - a_w)) = \frac{1}{m * C} + ((C - 1)(m * C))a_w \quad \text{Ecuación de BET}$$

$$y = a + bx \quad \text{Ecuación lineal}$$

ECUACIÓN DE BET

Para obtener el mejor grado de ajuste en esta ecuación se utiliza la ecuación de regresión lineal, para evaluar el mejor R^2 que se obtiene en cada morfotipo.

Tabla 3. Datos experimentales reemplazados en la ecuación de BET, que expresan las constantes encontradas y el grado de ajuste para el morfotipo amarillo.

Aw (X)	m	aw/(m(1-Aw))	1/(m*c)	(C-1)/(m*c)	y(ajustado)	m(ajustado)
0.0000	0.000	Y	a	b	a + b(Aw)	Aw/Y(ajus)(1-Aw)
0.083	0.0029	31.2112	9.5404	38.568	12.742	0.007
0.113	0.0177	7.1975	9.5404	38.568	13.899	0.009
0.225	0.0399	7.2763	9.5404	38.568	18.218	0.016
0.328	0.0322	15.1582	9.5404	38.568	22.191	0.022
0.654	0.0454	41.6338	9.5404	38.568	34.764	0.054
0.753	0.0804	37.9177	9.5404	38.568	38.582	0.079

Utilizando la ecuación propuesta por BET, al encontrar las constantes lineales se procedió a efectuar la operación, reemplazando los datos obtenidos en la ecuación y así poder expresar el coeficiente de correlación lineal y la curva de adsorción que nos indica la muestra.

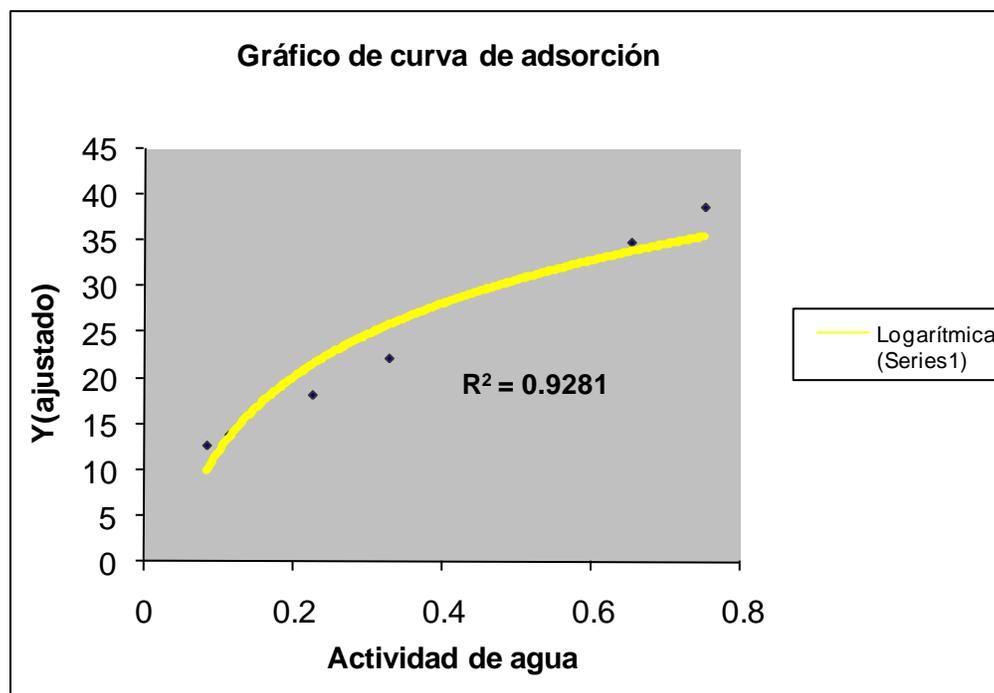


Figura 1. Ajuste de los valores experimentales de morfotipo amarillo con la ecuación de BET.

MORFOTIPO SHAMBO

Cálculos para obtener la curva de BET

Tabla 4. Datos experimentales reemplazados en la ecuación de BET, que expresan las constantes encontradas y el grado de ajuste para el morfotipo shambo.

Aw (X)	m	$aw/(m(1-Aw))$	$1/(m^*C)$	$(C-1)/(m^*c)$	y(ajustado)	m(ajustado)
0.0000	0.000	Y	a	b	$a + b(Aw)$	$Aw/Y(ajus)(1-Aw)$
0.083	0.0133	6.8055	-1.2748	54.03	3.210	0.028
0.113	0.0193	6.6008	-1.2748	54.03	4.831	0.026
0.225	0.0470	6.1771	-1.2748	54.03	10.882	0.027
0.328	0.0374	13.0507	-1.2748	54.03	16.447	0.030
0.654	0.0498	37.9553	-1.2748	54.03	34.061	0.055
0.753	0.0797	38.2507	-1.2748	54.03	39.410	0.077

Reemplazando los datos obtenidos en el gráfico se obtiene:

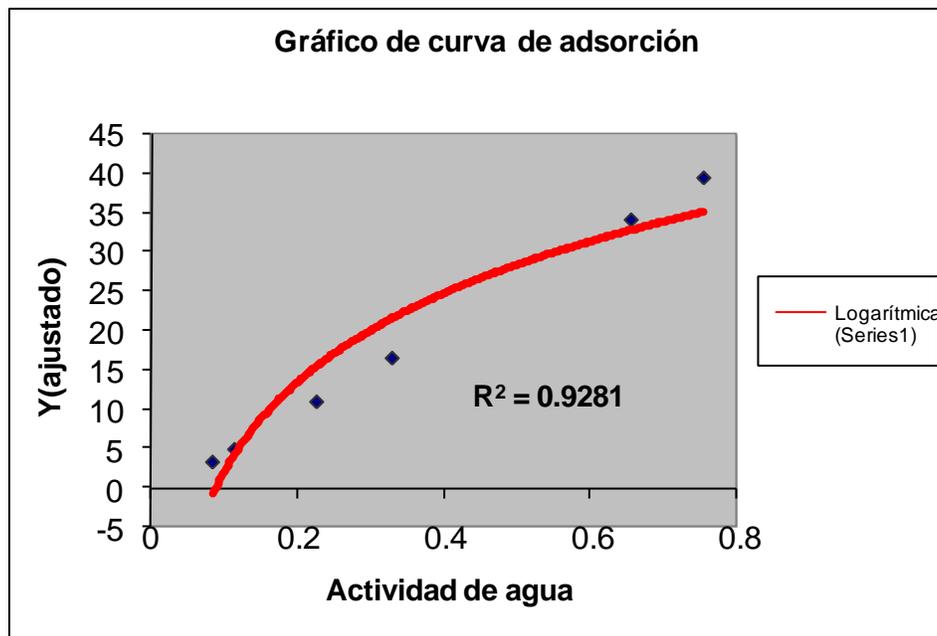


Figura 2. Ajuste de los valores experimentales de morfotipo Shambo con la ecuación de BET.

MORFOTIPO COLOR

Cálculos para obtener la curva de BET

Tabla 5. Datos experimentales reemplazados en la ecuación de BET, que expresan las constantes encontradas y el grado de ajuste para el morfotipo Color.

Aw (X)	m	$aw/(m(1-Aw))$	$1/(m^*C)$	$(C-1)/(m^*c)$	y(ajustado)	m(ajustado)
0.0000	0.000	Y	a	b	$a + b(Aw)$	$Aw/Y(ajus)(1-Aw)$
0.083	0.0133	6.8055	1.3341	42.369	4.851	0.019
0.113	0.0187	6.8126	1.3341	42.369	6.122	0.021
0.225	0.0559	5.1936	1.3341	42.369	10.867	0.027
0.328	0.0244	20.0039	1.3341	42.369	15.231	0.032
0.654	0.0899	21.0253	1.3341	42.369	29.043	0.065
0.753	0.0772	39.4894	1.3341	42.369	33.238	0.092

Reemplazando los datos obtenidos en el gráfico se obtiene:

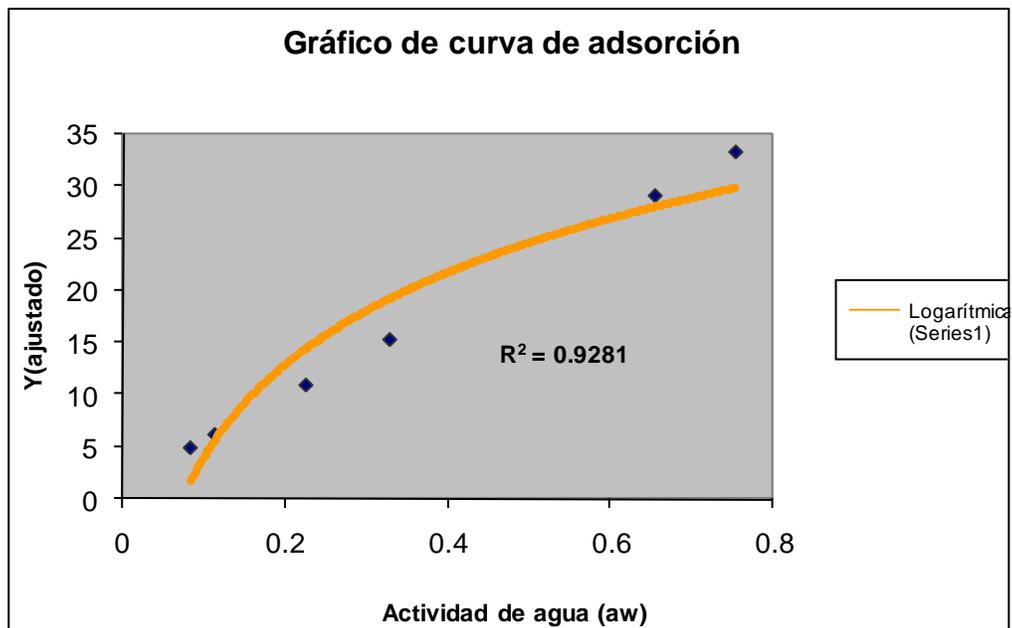


Figura 3. Ajuste de los valores experimentales de morfotipo Color con la ecuación de BET.

La calidad de ajuste del modelo propuesto que se encontró en la pulpa liofilizada de aguaje para los morfotipos Amarillo, color y Shambo se evaluó por medio del coeficiente de correlación de regresión (R^2), el que debe ser superior a 0,85 para conseguir un buen modelado de los datos experimentales, resultados similares obtuvieron COLOME, (2008) en Iquitos – Perú. GARCÍA *et. al.* (2007) evaluó en Argentina, determinaron las isothermas de adsorción y la cinética de secado de las hortalizas: cebollita de verdeo (*Allium cepa* L.), puerro (*Allium porrum* L.) y pimiento verde (*Capsicum annuum* L.), y las plantas aromáticas: orégano (*Origanum mejorana* L) y perejil (*Petroselinum sativus Hoffm*) donde las isothermas de adsorción se determinaron utilizando el método estático, exponiendo las muestras a atmósferas generadas con soluciones salinas saturadas a 30°C hasta alcanzar el equilibrio másico, para harina de maíz en Chile(VEGA *et. al.*, 2006), reportando que la humedad de la monocapa para los modelos GAB, BET, OSWIN Y HALSEY ajustaron de mejor manera los datos experimentales, en comparación a las demás ecuaciones propuestas en literatura. PRIETO *et. al.* (2005) reportando que los cereales para desayuno arroz, trigo y maíz en Chile expuestos a la libre adsorción de humedad, alcanzan rápidamente el equilibrio de adsorción. A baja a_w (0.10), los tres cereales evaluados en este trabajo, ceden humedad al medio; a partir de valores de a_w de 0.53 y mayores manifiestan sus capacidades de adsorción de humedad con el tiempo, lo cual está asociado a que en los cereales se encontraron altos contenidos de azúcares. El cereal de arroz, manifestó los menores valores de capacidad de adsorción, en tanto el de maíz, la más alta capacidad generando por consecuencia una débil hidratación., según informa CHAVEZ *et. al.*(2004) en Argentina, determinaron en modelar las isothermas de adsorción de berenjena deshidratadas en diferentes condiciones, aplicadas a las ecuaciones de BET, GAB Y FERRO – FOTAN siendo este último el que describe las isothermas de adsorción de las berenjenas secadas en todo el rango de temperaturas estudiadas.

MEDINA & MENDIETA (1995) en San Martín – Perú; obtuvieron para datos experimentales evaluar diferentes ecuaciones de isothermas de desorción para

valores experimentales de humedad de equilibrio y humedad relativa obtenidos en la desorción del jengibre, donde fueron evaluados 12 modelos matemáticos de isothermas.

4.4 **Estabilidad**

Tabla 6, nos indica, el comportamiento químico que presenta la pulpa liofilizada de aguaje para los morfotipos Amarillo, Shambo y Color, partiendo desde el tiempo inicial (tiempo cero), hasta el final (seis meses), siendo las muestras envueltas en cápsulas de gelatina a temperatura controlada de 30 °C y denotar si la estabilidad y la calidad que podría poseer el fruto el cual destaca dentro de nuestra región por su alto valor comercial, su excelente sabor y color característico; nos señale que la calidad es una función multiparamétrica y que viene determinada no sólo por las propiedades organolépticas, tales como color, sabor y textura, sino también, por el contenido en nutrientes. LABUZA Y HYMAN (1998), indican que la calidad y seguridad de un alimento que un fabricante debe tener en cuenta son la estabilidad microbiana, las propiedades físicas y la velocidad de los cambios químicos que conducen a la pérdida de vida útil.

Para la (USP 23 /NF 18 1995); la utilización de este método, nos permite ver si la estabilidad del producto a analizar en un tiempo controlado varía al transcurrir el tiempo.

Tabla 6. Comportamiento químico de muestras liofilizadas de aguaje, para los Morfotipos Amarillo, Color y Shambo

Ensayo Bromatológico	Tiempo cero			Tres meses			Seis meses		
	Amarillo	Color	Shambo	Amarillo	Color	Shambo	Amarillo	Color	Shambo
Humedad %	3.19	7.18	2.58	7.15	8.73	7.17	9.06	9.06	7.41
Cenizas %	2.24	2.94	2.30	1.93	2.32	1.91	1.99	2.48	1.91
Aceites %	48.23	33.49	47.47	25.38	62.16	49.79	64.03	24.25	46.82
Proteínas %	6.56	5.69	6.25	13.4	7.87	11.08	13.56	11.37	14.44

Fuente: Trabajo de la tesista

Los datos experimentales obtenidos (*tabla 6*), nos indican, que después de haber determinado el comportamiento químico para las muestras encapsuladas de aguaje liofilizado, el incremento de humedad va en aumento, desde el tiempo inicial hasta el final, para los tres morfotipos, empezando en el amarillo con 3,19% en su tiempo de inicio y terminando en 9,06% en su tiempo final. El mismo incremento ocurre para los morfotipos Color y Shambo; observando que sus contexturas físicas permanece igual sin presentar ablandamiento de la capa en que se encuentran cubiertos ni encogimiento de las mismas; en cuanto al contenido de residuos inorgánicos las muestras al transcurrir el tiempo presentan un leve decrecimiento, obteniendo mayor concentración en el tiempo inicial que el tiempo final, el cual nos señala el morfotipo amarillo que se inicia con un

2,24%, al inicio y termina con 1,99% al final del proceso. Mientras que para los morfotipos Amarillo y Color la obtención de aceite al inicio de su extracción es menor, expresando mayor concentración en el tiempo intermedio y decayendo en el tiempo final, el morfotipo Color nos señala que se inicia con un 33,49%, mientras que en su tiempo intermedio crece a un 62,16% y decae en el tiempo final con un 24,25%, a diferencia del morfotipo Shambo que permanece casi constante desde el inicio hasta el final del proceso. En cuanto al contenido de proteínas para los tres morfotipos se observa que al inicio la obtención es menor y la mayor concentración se da al final del proceso, señalando el morfotipo Amarillo con 6,56% al inicio, 13,4% en el tiempo intermedio y terminando con un 13,56%, en el tiempo final, permaneciendo casi constante al termino del proceso.

Siendo los datos experimentales analizados, con respecto a su estructura química (*tabla 1*), en comparación con la (*tabla 6*), nos indican, que la pulpa liofilizada posee sus características químicas en mayor proporción, conservando su pureza y característica química de la muestra. Se deduce que las muestras liofilizadas al ser encapsuladas y sometidas al análisis de estabilidad por un periodo de seis meses a una temperatura controlada de $\geq 30^{\circ}\text{C}$; se observa que en el transcurso del tiempo, la pérdida de fuerza en su comportamiento normalmente es el resultado de un cambio químico, que pueden ocurrir a través de la interacción entre los ingredientes dentro de un producto, o raramente entre el producto y recipiente. Una pérdida clara de su componente en el ingrediente activo, puede ser el resultado de la difusión de la muestra en o su combinación con la superficie del recipiente en el sistema del cierre. El comportamiento de sus componentes es determinada por medio de un procedimiento del ensayo que diferencia entre la molécula intacta y sus productos de degradación, lo que nos indica una leve señal de inestabilidad en el producto.

En cuanto a su comportamiento físico, la pulpa de aguaje liofilizada y encapsulada bajo estas condiciones de formulación; se observa que la formación del producto terminado al ser manipuladas, abiertas y expuestas al ambiente para analizar el contenido; no muestra ninguna descarga de gas ni cambio en su apariencia en ninguno de los tres morfotipos.

Con respecto a su comportamiento microbiológico en los análisis la (Tabla 7) nos indica la contaminación por bacterias, recuento de mohos, recuento de levaduras y probables contaminación de *Escherichia coli*. Siendo en general dentro del rango de aceptabilidad para el recuento de microorganismos un indicativo en las condiciones de salubridad de los alimentos, las tasas superiores a $10^6 - 10^7$ ufc/ml, pueden ser indicios de descomposición. Asimismo el límite para mohos y levaduras es de 10^3 ufc/ml PASCUAL, (1992).

Tabla 7. Determinación de análisis microbiológicos

Ensayo microbiológico	Tiempo cero			Seis meses		
	Amarillo	Color	Shambo	Amarillo	Color	Shambo
Recuento de Mohos (ufc/g)	9.9×10^3	9.5×10^1	4.7×10^3	1.5×10^1	<10	<10
Recuento de levaduras (ufc/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Bacterias Heterotróficas (ufc/g)	4.9×10^2	9.0×10^1	7.9×10^2	<10	<10	<10
<i>Escherichia coli</i> (ufc/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10

Fuente: UNAP- Laboratorio de Industrias alimentarias

Las muestras de aguaje liofilizadas se observa que antes de que las mismas fueran encapsuladas se hace denotar una leve apariencia de Mohos y Bacterias Heterotróficas con posible contaminación del producto al

inicio del proceso, pero al ser encapsuladas se observa el decrecimiento de microorganismos y disminución de contaminación, criterio que se evalúa debido a las condiciones en las cuales fueron sometidas las muestras y ventaja que pudieran producir en un periodo prolongado de seis meses de almacenamiento bajo esa envoltura .

Las ventajas al determinar estos análisis es que a la temperatura de 30°C todas las bacterias, mohos y levaduras son capaces de desarrollarse en condiciones establecidas, reflejando la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación y las condiciones higiénicas de la materia prima ORTIZ, (2003). Entre las desventajas tenemos que estos recuentos no pueden considerarse como “totales” ya que solo son susceptibles del conteo aquellos microorganismos capaces de crecer en las condiciones establecidas, además se estima la microflora total sin especificar los tipos de microorganismos y por último, sin tener un recuento bajo de aerobios mesófilos el cual nos indica las condiciones de salubridad de algunos alimentos eso no nos asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas; de la misma manera que un recuento elevado no significa presencia de flora patógena.

4.5 Pro vitamina

En los gráficos 7 y 8, se observa que al extraer el aceite con hexano de las muestras encapsuladas de aguaje, se observa que a una lectura de absorbancia de 450nm existe presencia de β - caroteno en la muestra antes de ser encapsuladas y como esta se va degradando esto podría deberse a alguna reacción enzimática de degradación y/o reacciones de destrucción química y/o una combinación de ambas, sin embargo y por la forma de las graficas obtenidas podría considerarse como degradación oxidativa ya sea por efecto de la temperatura o el almacenamiento a las cuales fueron sometidas. A diferencia del retinol se observa que a una lectura de 470nm existe presencia del mismo en la misma proporción del β -caroteno.

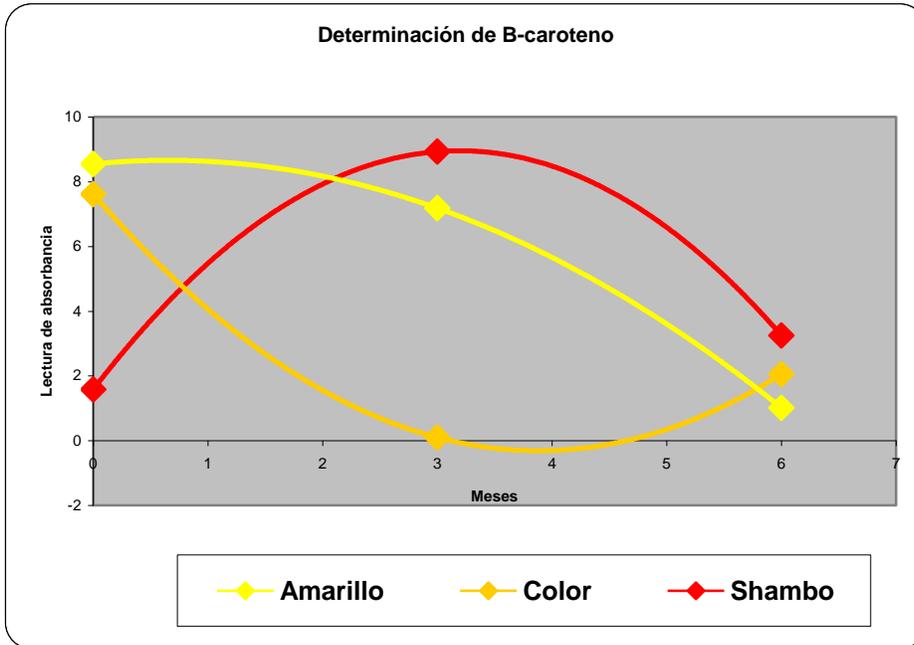


Gráfico 7. Análisis de β -caroteno por espectrofotometría a luz visible de 450nm

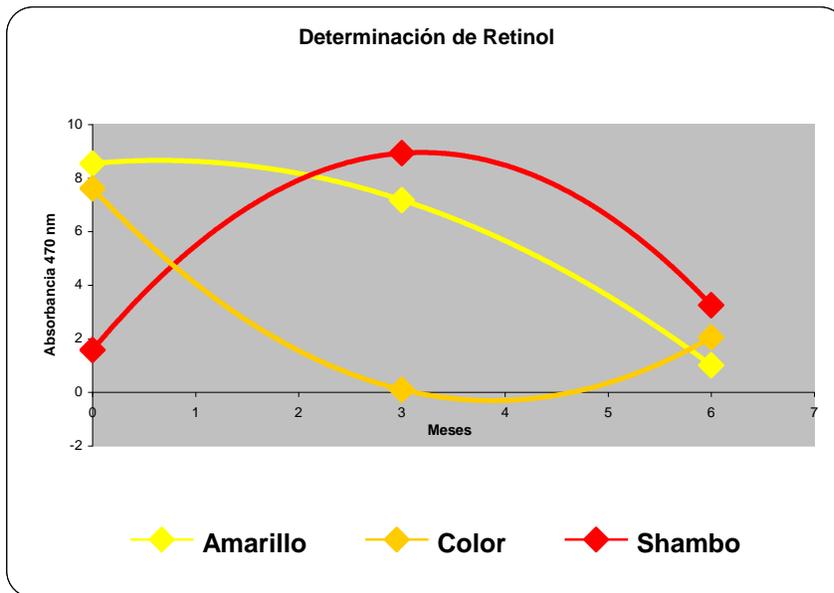


Gráfico 8. Análisis de retinol por espectrofotometría a luz visible de 470nm

En la (*Tabla 8*), se presentan los resultados de estabilidad del β -caroteno encapsulado conteniendo la pulpa de aguaje liofilizado a -50°C y almacenadas a 30°C , por un lapso de 180 días. Se observa que la concentración inicial, prácticamente triplica lo obtenido por el de VÁSQUEZ, (2008), al trabajar con pulpa seca. Este resultado es concordante, debido a la pérdida de humedad por la pulpa del aguaje, al ser sometida a la operación de deshidratado por liofilización. Del mismo modo esta cifra es superior a la de pulpa fresca de aguaje dada por YUYAMA *et al.*, (1998) quienes reportan valores entre 11,05 mg/100g a 35,8 mg/100g, y al de umarí que presenta entre 7,9 mg/100g y 15,3 mg/100g, según reporta MARINHO Y CASTRO, (2002).

Tabla 8. Estabilidad del β -caroteno (mg/100g) en cápsulas de gelatina conteniendo pulpa liofilizada de aguaje de tres morfotipos almacenadas a 30°C , por espectrofotometría a luz visible de 450nm

Morfotipos	Días de almacenamiento		
	0	90	180
Amarillo (mg/100g)	85.46	71.83	12.3
Color (mg/100g)	76.19	0.98	24.0
Shambo (mg/100g)	15.37	8927	15.0

Fuente: Trabajo de la tesista

4.6 Micronutrientes minerales

La (*tabla 9*), nos muestra el valor nutricional de los micronutrientes minerales que se encuentran presentes en la pulpa liofilizada de aguaje

para los morfotipos amarillo, color y shambo. Datos experimentales obtenidos a través de la utilización del equipo de absorción atómica.

Tabla 9. Datos experimentales de metales obtenidos en el aguaje liofilizado de tres morfotipos

Minerales	Amarillo mg/100g	Color mg/100g	Shambo mg/100g
Fierro	1.43	2.67	1.33
Manganeso	2.03	16.28	15.59
Zinc	8.25	1.33	3.05
Sodio	331.13	220.42	350.43
Calcio	64.75	74.43	151.93
Potasio	1673.37	2488.16	1420.93
Magnesio	212.57	171.43	141.08
Cobre	2.32	1.21	0.52

Fuente: IIAP – Laboratorio de sustancias naturales (sala de espectrofotometría)

Como se observa en esta tabla, se observa que la concentración que en todos los metales obtenidos prácticamente es 10 veces más lo obtenido por el de VÁSQUEZ, (2008), al trabajar con pulpa fresca de aguaje de los mismos tres morfotipos. Este resultado es concordante, debido a la pérdida de humedad por la pulpa del aguaje, al ser sometida a la operación de deshidratado por liofilización el cual nos indica que la muestra sometida a esta proceso mantiene sus propiedades nutritivas. Dando como ventaja que el consumo de este producto, debido a la cantidad de minerales que posee es de esencial importancia en el metabolismo humano. MITCHELL *et al.*, (1978) dijo que, aproximadamente el 2% del cuerpo humano adulto es calcio y 1% es fósforo. Así mismo, el 99% de calcio es constituyentes de los huesos y dientes 75% fósforo, dándoles fuerza y rigidez.

4.7 Actividad antioxidante

Las IC₅₀ obtenidas fueron >50% estos resultados que nos indican la (tabla 7) son las concentraciones que se emplearon y las cuales presentó la actividad antioxidante mas relevante, para cada lectura por morfotipo pruebas químicas previas realizadas en esta especie.

Tabla 7. Evaluación de la actividad antioxidante, como porcentaje de inhibición del radical DPPH por la pulpa liofilizada de tres morfotipos de aguaje

Concentración ug/mL	%Inhibición		
	Amarillo	Color	Shambo
10000	52.07	62.00	70.37
3000	25.37	32.24	38.09
1000	10.78	16.62	17.59
300	8.04	6.72	9.05

Fuente: trabajo de la tesista

En la Tabla 8, se presenta el porcentaje de inhibición de la pulpa de aguaje liofilizado, utilizando como radicales libres los proporcionados por el DPPH, se observa que en todas las concentraciones efectuadas el morfotipo shambo presenta mayor actividad antioxidante. Estos datos demuestran una actividad antioxidante moderada si se compara con la pulpa, cáscara y semilla de camu camu, los cuales presentan a 300 ug/mL una actividad antioxidante de 75,33 ug/mL, 76,64 ug/mL y 43,54 ug/mL respectivamente, según reporta SOTERO *et al.*, (2009) (Tabla 9). Resultados similares nos indica la (Tabla 10). Para la Anona, Chope, Huito, Huasaí, Uvilla y castaña.

Tabla 9. Evaluación de la actividad antioxidante por secuestro del radical 2,2-dipfenil-1-picrilhidrazil (DPPH) y determinación del IC₅₀ en extracto metanólico de camu camu

Parte	10 ug/ml	30, ug/ml	100ug/ml	300, ug/ml	1000, ug/ml	IC 50, ug/ml
Pulpa	8,45 ± 0,1	15,17 ± 2,3	37,80 ± 3,9	75,33 ± 7,8		167,67 ± 30.0
Cáscara	13,27± 2,7	21,52 ± 0,5	42,61 ± 0,2	76,64 ± 5,1		146,94 ± 2.1
Semilla	6,55 ± 3,2	9,78 ± 2,4	17,11 ± 1,3	43,54 ± 1,8	85,63 ± 2,0	399,77 ± 15.7

Fuente: Sotero V. (2009)

Tabla 10. Evaluación de la actividad antioxidante por secuestro del radical 2,2-dipfenil-1-picrilhidrazil (DPPH) y determinación del IC₅₀ en extracto metanólico de Anona, Chope, Huasaí, Huito, Uvilla y Castaña.

Frutos	Extractos metanólicos					
	100 ug/ml	300 ug/ml	1000 ug/ml	3000 ug/ml	1000 ug/ml	IC ₅₀ , ug/ml
Pulpa						
Anona	5.6	5.16	19.09	-	-	-
Chope	3,71	7,66	13.67	32.10	78.26	5715.44 ± 0.089
Huasaí (pulpa/cáscara)	14,74	19.33	45.68	70.23	87.87	1347.94 ± 0.085
Huito	11,6	8.36	12.93	23.64	59.13	8261.01 ± 0.019
Uvilla	11.38	10.38	21.55	-	-	-
Cáscara						
Anona	6,33	13.01	22.63	35.88	83.68	5066.66 ± 0.105

Chope	73.30	96,36	96,00			63.02 ± 0.004
Huito	10.98	12.19	-	-		-
Uvilla	12,95	15,36	96,37	-	-	-
Semilla						
Anona	6,86	13.01	13,32	35.88	51.22	9449.31 ±0.14
Castaña	14.31	15.72	21.55	-	-	-
Chope	5.95	6.30	15.98	-	-	-
Huasai	13,13	18.46	96,37	68.25	90.89	1544.59 ± 0.02
Uvilla	53,98	74,12	87,65	-	-	700,47 ± 0.041

Fuente: Sotero V. (2009)

CONCLUSIONES

1. Los frutos de aguaje al ser liofilizados se observa que el 75% del agua contenida es eliminada durante el proceso obteniéndose un 25% de pura muestra en los frutos.
2. Después de ser liofilizadas las muestras de aguaje se ejecutó el análisis de humedad para determinar si la muestra es propensa a regenerarse nuevamente captando humedad inmediata del ambiente que lo rodea. Siendo los resultados satisfactorios, indicando que la muestra liofilizada no se humedece fácilmente permaneciendo su comportamiento físico estable al ambiente y seco al tacto.
3. En los análisis bromatológicos se observa que a medida que transcurre el tiempo las muestras encapsuladas se inestabilizan mostrando diferentes variaciones en humedad, cenizas, aceites y proteínas
4. La determinación de pro vitamina A durante su almacenamiento a temperatura de 30°C se nota una leve degradación oxidativa lo que nos indica presencia de inestabilidad en la muestra.
5. Para la actividad antioxidante las concentraciones de 10000 µg/mL nos indica en el morfotipo amarillo presenta un 52,07% de inhibición en la muestra, observando a la misma concentración el morfotipo shambo con el 70,37% de inhibición elevada para ambos siendo mínima para el morfotipo color indicando una menor inhibición por debajo de los 50.

BIBLIOGRAFÍA

1. AMOS, A. J. (1986). Manual de industrias alimentarias. Ed. Acribia Zaragoza., p. 240.
2. AOAC. (2005). Official Methods of Analysis. of the Association of Official Agricultural Chemists (AOAC), 18th edition, 2007. Gaithersburg, Maryland, USA..
3. VEGA GÁLVEZ, A. LARA ARAVENA, E.; LEMUS MONDACA, R. (2006). “Isotermas de adsorción de harina de maíz”, Universidad de la Serena Chile, Campinas, 26(4): 821-827.
4. ADOLFO LUTZ (1985). Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 2 ed. São Paulo. 1, p. 583.
5. ACERO, D. L. E. (1979). Principales plantas útiles de la Amazonía Colombiana. Proyecto Radargramétrico del Amazonas. Bogotá. p. 169.
6. ANCASI VICTORIA C. GAMARRA TENICELA, L. GARCÍA VENTOCILLA, D. GÓMEZ VILA, J. L. MEJIA AGUIRRE, L. TOLEDO RUIZ, R. M. (2005). Transferencia de Masa y Calor en la Liofilización. Universidad Nacional del Centro del Perú – Huancayo.
7. BADUI, D. S. (¿) “Química de los alimentos”, 4^a ed. 1. p 736.
8. BAO B, CHANG KC. (1994). Carrot juice color, carotenoids, and nonstarchy polysaccharides as affected by processing conditions. *Journal of Food Science*; 59(6): 1155-1158.

9. BELITZ, H. D.; GROSH, W (1982) Química de los alimentos. Ed. Acribia. Segunda Edición. p. 3
10. BOQUET R., CHIRIFE J., IGLESIAS, H. (1978) Equations of fitting water sorption isotherms of foods. II. Evaluation of various two parameters models. *J. F. Technology*, 13 – 329 - 327.
11. BLOMHOFF R, (ed) (1994). Manual de ver y vivir New York. Dekker, p. 60
12. CALVO, V.I. (2000), Unidad de Nutrición Clínica y Dietética La Paz. Madrid.
13. CALZADA, B.J. (1980). 143 Frutales Nativos. Librería El Estudiante, Lima. pp. 98-101.
14. CASTRO, A. de. (1993). Burití. In: Clay, J.W. & Clement, (C.Eds.) Selected species and strategies to enhance income generation from amazonian forests. FO: Mis /93/6. Working Paper. FAO, Roma. pp. 68-80.
15. CANTÚ C. G. M. (2001). Actividad antioxidante de 15 plantas nativas del Estado de Nuevo León. Tesis de Licenciatura. Fac. de Ciencias Biológicas UANL. pp 55
16. COLE E. R, KAPUR N. S (1957). The stability of lycopene. I.- Degradation by oxygen. *Journal of the Science of Food and Agriculture*; 8: 360-365.
17. COLOME F. (2008), "Utilización de las isothermas de adsorción del atomizado de la sachapapa" (*Discorea trifida*) FIA; UNAP – IQUITOS, p96.

18. CHAVES MARÍA G., SGROPPO SONIA C., AVANZA JORGE R., (2004) “Isotermas de adsorción de berenjenas deshidratadas”; Universidad Nacional del Nordeste; Laboratorio de tecnología química; Resumen E-081
19. CHEFTEI, J.C Y CHEFTEL H. (2000), Introducción a la Bioquímica de los Alimentos, Vol. 1, Ed. Acribia Zaragoza. P.530p.
20. CHOI MH, KIM G.H, LEE H.S. (2002). Effects of ascorbic acid retention on juice color and pigment stability in blood orange (*Citrus sinensis*) juice during refrigerated storage. *Food Research International*; 35: 753-759.
21. CHIRALT [AMPARO BOIX](#), MARÍA LUISA CASTELLÓ GÓMEZ, [PEDRO J. FITO SUÑER](#) (2007) “Efecto de las condiciones de operación en los cambios fisicoquímicos y fisiológicos de frutas mínimamente procesadas por deshidratación osmótica” [Universitat Politècnica de València](#) (España) ISSN 0212-1689, [Año nº 24, N° 203](#), p. 57-62
22. Freitas, L. Del Castillo, D., (2006).“Aguaje Maravillosa Palmera de la Amazonía” Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana – IIAP – Iquitos, 54p.
23. FENNEMA, O. R. (Ed); (1990) Food Chemistry, 2nd Edition. Revisado y expandido Marcel Dekker, N.Y Inc. pp 46 - 50
24. FLORES, S. (1997) Cultivo de Frutales Nativos Amazónicos. Manual para el extensionista. Lima: Mirigraf S.R.L. p.7-14.
25. GARCÍA, S.V.;SCHMALKO, M.E.; TANZARIELLO, (2007) “Isotermas de Adsorción y Cinética de Secado de Ciertas Hortalizas y Aromáticas Cultivadas en Misiones” INTA, Argentina. *RIA*, 36 (1): 115-129.

26. GARCÍA J.; PAREDES E. (1995), "Estudio técnico de la extracción liofilizada de la pulpa refinada del fruto de camu camu (*Myrciaria dubia*) contenido ácido ascórbico (vitamina C)", Tesis. FIQ. UNAP – Iquitos.p. 70p.
27. GEILFUS, F. (1994). "El árbol al servicio del agricultor". Manual de agroforestería para el desarrollo rural.. *Guía de especies. enda-caribe*, CATIE. Costa Rica. 2 pp. 222-223.
28. GEANKOPLIS, C.J. (1998), "Procesos de Transporte y Transferencia de Materia", Compañía editorial continental, México, Tercera Edición.
29. GEANKOPLIS, CHRITIE J (1982) "Operaciones Unitarias", Editorial Continental -México. Pg. 54
30. GOODMAN DS, HUANG HS, SHIRATORI T (1966). Mechanism of the biosynthesis of vitamin A from b-carotene. *J Biol Chem* 241:1929-1932.
31. HIGBY, W.K. (1962) a simplified method for determination of the carotenoid distribution in natural and caotene fortified orange juice. *J. Food Sci*, 27:42-49,
32. HARPER A. H. (2002) BIOQUIMICA ILUSTRADA. 16ª. Editorial El Manual Moderno,. México, D.F. – Bogotá, D.C. pg. 538-543
33. INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE – ISPC (1995); Guía para la realización de estudios de estabilidad. p.
34. KIRK R. S., SAWYER R., EGAN H. (1996) "Composición y Análisis de alimentos de pearson" 2ª Ed., México.260
35. MAGDONAL, A. (1987), Manual de ver y vivir. "La vitamina A en la Salud" p.35

36. MEDINA MARI V., MENDIETA O.T., (2005) “Estudio de las Isotermas de Desorción del Jengibre (*Zingiber officinale*)” Universidad Nacional de San Martín. *Folia Amazónica* 7 (1-2) – IIAP
37. MARTÍN N.A. (1970). “Principios de Físico- Química para Farmacia y Biología”, Ed. ALHAMBRA, S.S. México, Pág. 611- 638.
38. MARINHO, H. A.; CASTRO, J. S. (2002). Carotenóides e valor de pró- vitamina A em frutos da região amazônica: pajurá, piquiá, tucumã e umari. In: XVII CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17, Belém. Anais... Belém:Meio magnético,
39. MENDOZA, L. (2003). Evaluación de los carotenoides presentes en la cáscara de naranja (*C i t r u s sintensis* L) variedades california (Washington navel), pineapple, criolla y cajera. Ingeniería de alimentos. Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez. Canoabo. Venezuela. 96p.
40. MEJIA, K. (1992). Las palmeras en los mercados de Iquitos. *Bull.Inst.fr. études andines*, 21(2): 755-769.
41. MELÉNDEZ-MARTÍNEZ J. A, ISABEL M. VICARIO, FRANCISCO J. HEREDIA. (2004) “Área de Nutrición y Bromatología”. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla- Sevilla, España, 54(2)
42. MELO M., CAROLINA. (2005), “Cultivo y Deshidratación de un Probiótico para Medicina Preventiva”, Informe de Memoria de Título, Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Concepción.
43. MITCHELL S. H., RYNBERGEN J. H., ANDERSON L., DIBBLE M., (1978), “Nutrición” 16ª Ed. p.47-73.

44. MURRAY RK, MAYES PA, GRANNER DK (1998). Bioquímica de Harper. 14ª Edición, México DF: El Manual Moderno, .440 p
45. LABUZA, T. P.; KAAANANE, A.; CHEN, J. Y. (1985) Effect of temperature on the moisture sorption isotherm and water activity shift of two dehydrated food. Journal Food Science, v. 50, n. 2, pp. 392-396.
46. LABUZA, T.P; HYMAN, C. R. (1998). Moisture migration and control in multidomain foods. Trens in Food Science and Technology, pp. 9, 47 – 55.
47. ORTIZ, M. (2003) Material didáctico de microbiología de alimentos: Recuento de microorganismos aeróbicos mesófilos. Obtenido el 01 de febrero del 2008 en Universidad de Alcalá – España
48. OLSON J.A (1994). Vitamin A, retinoids, and carotenoids. In Shils ME, Olson J.A, Shike M (eds). Modern Nutrition in Health and Disease, Philadelphia.. 8th edition pp.287-307
49. ORFANOS C.E, BRAUN-FALCO, O. FARBER E.M. (1981). Retinoids: Advances in Basic Research and Therapy. Springer-Verlag, Berlin.
50. ORFANOS C.E (1997) Vesanoid. Tretinoin. Acne. Soriatane. Acitretin. Psoriasis. Panretin. Alitretinoin., p.xx
51. ORUÑA-CONCHA MJ, *et. al* (1997) Effects of freezing on the pigment content in green beans and Padrón peppers. Z Lebensm Unters Forsch A; 205: 148-152.
52. OSBORNE, D. R. & VOOGT, P. (1978), Análisis de los nutrientes de los alimentos, Editorial Acribia, S.A. Zaragoza (España).

53. PASCUAL, M.R. Microbiología de alimentos: Metodología analítica para alimentos y bebidas. Madrid: Ed. Díaz dos Santos, 1992.
54. PRIETO FRANCISCO, JUDITH PRIETO, ALMA DELIA ROMÁN, ALBERTO JOSÉ GORDILLO, CARLOS GÓMEZ; (2005), "Revista Chilena de nutrición" v. 32, n. 2, pp. 150 – 157.
55. RODRIGUEZ-AMAYA D. (1999) Changes in carotenoids during processing and storage of foods. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*; 49(1-S): 38-47.
56. RODRIGUEZ-AMAYA D.B. (1997). Carotenoids and food preparation: the retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed and stored foods. Washington, D.C.: OMNI/USAID. .
57. RODRIGUEZ-AMAYA, D. B., C. A. TAVARES. (1992). Importance of cis-isomer separation in determining provitamin A in tomato and tomato products. *Food Chem.* 45:297-302.
58. ROCKLAND L. B. RADKE T. M. (1981). Legume protein quality. *Food technol.* 35(3): 79- 82
59. SELIM K, TSIMIDOU M, BILIADERIS CG. (2000). Kinetic studies of degradation of saffron carotenoids encapsulated in amorphous polymer matrices. *Food Chemistry*; 71: 199-206.
60. SOEKARTO, S. T.; STEINBERG, M. P (1981). Determination of binding energy for the three fractions of bound water. In. *Water Activity: Influences on Food Quality*, (L. B. Rockland and G. F. Stewart, ed), Academic Press, New York, p. 265-279,

61. SOTERO V.E. (2006). LIOFILIZACIÓN DE LA PULPA DE AGUAJE (*Mauritia flexuosa* L.F.) Informe técnico. IIAP Pucallpa – Perú
62. SOTERO, V., GARCIA DE SOTERO, D.; SILVA, L; IMÁN SIXTO (2009). “Evaluación de la actividad antioxidante de la pulpa, cáscara y semilla del fruto del camu camu (*Myrciaria dubia* H. B. K.)” *Rev. Soc. Quim. Peru.*:75. (3)294-299.l
63. SCOTT DP. (1962). Effect of food quantity on fecundity of rainbow trout *Salmo gairnieri*. *Journal of the Fisheries Board of Canada* 19: 715-731
64. URREGO, L. E. (1987). Estudio preliminar de la canangucha (*Mauritia flexuosa*). *Colombia Amazónica*, 2 (2): p108-115
65. UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. USP 23 /NF 18 States Pharmacopoeia. 22 ed. Easton: Mack Printing, p 1957-1963
66. VÁSQUEZ, M. A (2000). El camu camu; cultivo, manejo e investigaciones. Editora gráfica e Imprenta Universal SRL. Iquitos – Perú. P...
67. VÁSQUEZ ORTIZ P. G. (2008) “Caracterización de ácidos graso β -caroteno, α -tocoferol y estabilidad oxidativa de los aceites de tres morfotipos de *Mauritia flexuosa* L. f. mediante cromatografía de gases, HPLC y rancimal” tesis. F. F y B. UNAP – IQUITOS, p.126
68. VEGA V. R. (2000). Valor agregado en camu camu. Informe final de investigación, IIAP Pucallpa – Perú. 08p.

69. VEGA GÁLVEZ A., LARA ARAVENA E.; LEMUS MONDACA R. (2006).
“Isotermas de adsorción en harina de maíz”; Departamento de
Ingeniería de alimentos; v. 26, n. 4, p La Serena – Chile.
70. WAGNER LA, WARTHESEN JJ. (1995). Stability of spray-dried
encapsulated carrot carotenes. *Journal of Food Science*; 60: 1048-1052.
71. www.wikipedia.es “Actividad antioxidante & Radicales libres”
72. www.wikipedia.es “Cápsulas de gelatina”
73. YUYAMA, L. K. O. et al. (1998). Biodisponibilidade dos carotenóides do
buriti (*Mauritia flexuosa* L.) em ratos. *Acta Amazonica*, Manaus, v. 28, n.
4, p. 409-415.
74. ZUG, J.P. (2002), Isoterma de sorción de tres etapas y modelos de
porción restringida. Curso de Fisicoquímica especial. Monografía N°6.
Facultad de Ingeniería. Departamento de Química. Buenos Aires, 16p.