

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**



**ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO REOLOGICO DE MEZCLAS DE
PECTINA CITRICA (*Citrus aurantium*) Y EXTRACTOS ACUOSOS DE MATIAL
(*Pereskia lychnidiflora*)**

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

**CLAUDIA LORENA GRANDE COREAS
JUANA CECILIA ROMERO HERNANDEZ**

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA

MAYO 2020

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

Maestro Roger Armando Arias Alvarado

SECRETARIO GENERAL

Ing. Francisco Antonio Alarcón Sandoval

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

Licda. Reina Maribel Galdámez

SECRETARIA

Licda. Eugenia Sorto Lemus

DIRECCION DE PROCESO DE GRADUACION

DIRECTORA GENERAL

MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez

TRIBUNAL CALIFICADOR

**ASESORAS DE AREA EN APROVECHAMIENTO DE RECURSOS
NATURALES:**

Licda. Rina Antonieta Toledo Mendoza

MSc. Morena Lizette Martínez de Diaz

DOCENTE ASESOR:

Ing. Sergio Armando Maravilla Miranda

AGRADECIMIENTOS

Agradecer infinitamente a Dios todopoderoso por guiarnos, acompañarnos, darnos siempre la sabiduría y las fuerzas para culminar todo este proceso.

A nuestro asesor Ingeniero Sergio Armando Maravilla Miranda que, con toda su paciencia nos brindó consejos, regaños y siempre nos mostró su disponibilidad e interés en ayudarnos a cumplir nuestra meta.

A MSc. Enrique Posada Granados y Licda. Dalila Guadalupe Anaya Rodríguez por brindarnos los conocimientos necesarios y el equipo para realizar los análisis experimentales de nuestro trabajo de graduación.

Al Dr. Marvin Núñez y todo el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPN) por darnos la oportunidad de realizar en sus instalaciones la etapa previa experimental para nuestro trabajo.

A nuestro jurado calificador: MSc. Cecilia Haydée Gallardo de Velásquez, MSc. Morena Lisette Martínez de Díaz y Licda. Rina Antonieta Toledo Mendoza por el tiempo dedicado a la evaluación de este trabajo y por las valiosas sugerencias que nos aportaron.

A todas aquellas personas que de una u otra forma nos ayudaron a concluir este trabajo.

Claudia Grande y Cecilia Romero

DEDICATORIA

A Dios por todas las bendiciones recibidas a lo largo de toda mi vida y por ser la fuerza que me impulsa y me ayuda a superar todos los obstáculos.

A mis padres Daysi Coreas y Eduardo Grande por todo su apoyo, su amor, por todos los sacrificios y ser los pilares fundamentales de mi vida, lo que he logrado hasta ahora ha sido por ustedes.

A mis hermanos Marleny y Marvin por su ayuda, aliento y amor brindado a lo largo de mi vida.

A todas esas personas que conocí a lo largo de la carrera las cuales me brindaron su amistad, compartieron su tiempo y conocimientos conmigo.

A mi compañera de tesis Cecilia Romero por su tiempo dedicado a nuestro trabajo de graduación y porque aún en las dificultades que se presentaron en este proceso siempre estuvo dispuesta a seguir adelante.

Claudia Grande

DEDICATORIA

Dedico este proyecto a mis padres Norma Hernández de Romero y José David Romero Amaya, por su apoyo económico durante todo el camino recorrido hacia mi superación profesional.

Y de manera especial a todos los que formaron parte de este proceso:

Aury, Mis hermanas, Madali Romero, Armando Romero, Ángel Romero, Manual Romero, Isidro Romero, Gilberto Romero, Alejandro Hernández, David Miranda, Elliot Civallero, Mónica Rivas, Harlen Campos, Williams Ortiz, José Carranza, Oscar Rivas y mi compañera Claudia Grande.

Cecilia Romero

INDICE GENERAL

RESUMEN

CAPITULO I

1.0 INTRODUCCION	xviii
------------------	-------

CAPITULO II

2.0 OBJETIVOS	
---------------	--

CAPITULO III

3.0 MARCO TEORICO	23
3.1 Monografías	23
3.1.1 Naranja agria	22
3.1.2 Matial	27
3.2 Cactaceae	30
3.3 Pectina	31
3.4 Análisis bromatológico	35
3.5 Reología	38
3.5.1 Fluidos newtonianos y no newtonianos:	38
3.6 Estudios de estabilidad	44
3.6.1 Tipos de estudio de estabilidad	44
3.6.2 Parámetros de evaluación en la estabilidad	47

CAPITULO IV

4.0 DISEÑO METODOLOGICO	
4.1 Tipo de estudio	49
4.2 Investigación Bibliográfica	49
4.3 Investigación de campo	50

4.4	Parte experimental.	53
4.4.1	Tratamiento del Material vegetal: Naranja agria (Citrus aurantium)	53
4.4.2	Extracción de pectina	53
4.4.3	Pruebas de control de calidad para pectina según USP	54
4.4.4	Análisis Químico proximal y Análisis de Calcio y Fósforo en hojas de Matial	56
4.4.5	Tratamiento del Material vegetal: Matial (<i>Pereskia lychnidiflora</i>)	65
4.4.6	Preparación de extractos acuosos de Matial	66
4.4.7	Preparación de la solución de pectina 5%	67

CAPITULO V

5.0	Resultados y Discusion de Resultados	72
5.1.1	Recolección e identificación de especies	72
5.1.2	Obtención de la pectina y cálculo de rendimiento.	73
5.1.3	Determinación de Porcentaje de grupos Metoxilo y Ácido Galacturónico de pectina cítrica obtenida.	75
5.1.4	Análisis Químico Proximal, Calcio y Fosforo de Hojas de Matial.	76
5.1.5	Determinación del comportamiento reológico	78
5.1.6	Estabilidad a tiempo real	88

CAPITULO VI

6.0	CONCLUSIONES	93
-----	--------------	----

CAPITULO VII

7.0	RECOMENDACIONES	96
-----	-----------------	----

BIBLIOGRAFIA

GLOSARIO

ANEXOS

INDICE DE FIGURAS

Figura N°		Pág. N°
1	<i>Citrus aurantium</i>	23
2	Sección transversal del fruto de <i>Citrus aurantium</i>	27
3	<i>Pereskia lychnidiflora</i>	27
4	Mapa de distribución de <i>Pereskia lychnidiflora</i> en El Salvador	29
5	Estructura básica de la pectina.	32
6	Clasificación general de los tipos de fluidos en función de sus propiedades reológicas	39
7	Comportamiento reológico cuando la viscosidad no varía en el tiempo	42
8	Comportamiento reológico cuando la viscosidad varia en el tiempo	44
9	Viscosidad aparente versus Velocidad de rotación de los Extractos acuosos de hojas de <i>Pereskia lychnidiflora</i> a 60 minutos y 90 minutos por extracción asistida en ultrasonido	80
10	Log ₁₀ Viscosidad aparente versus Log ₁₀ Velocidad de rotación de los Extractos acuosos de hojas de <i>Pereskia lychnidiflora</i> a 60 minutos y 90 minutos por extracción asistida en ultrasonido	83
11	Viscosidad aparente versus Velocidad de rotación de Pectina 5 %	84
12	Viscosidad aparente versus Velocidad de rotación de las mezclas M1E60 y M2E90	86
13	Log ₁₀ Viscosidad aparente versus Log ₁₀ Velocidad rotación de las mezclas M1E60 y M2E90	88
14	Viscosidad versus Velocidad de rotacion de la mezcla de estabilidad de 1 dia y 7 dias.	90

INDICE DE CUADROS

Cuadro N°		Pág. N°
1	Figuras representativas usadas para el estudio	51
2	Volúmenes a tomar para la preparación de estándares de fósforo	65
3	Preparación de las mezclas a partir de los 2 extractos 60 minutos y 90 minutos y una solución de pectina 5%	68

INDICE DE TABLAS

Tabla N°		Pág. N°
1	Resultados de la Ubicación y número de Váucher	72
2	Resultados de la prueba A y prueba B para identificación de pectina cítrica.	73
3	Resultados de porcentaje de grupos Metoxilo y Ácido Galacturónico.	74
4	Resultados del Análisis bromatológico y minerales: Calcio y Fosforo realizado en Hojas de Matial (Resultados presentados en Base Seca)	76
5	Resultados del Perfil de Viscosidad de los Extractos acuosos de hojas de <i>Pereskia lychnidiflora</i> a 60 minutos y 90 minutos por extracción asistida por ultrasonido	79
6	Logaritmo (Log_{10}) de los resultados del Perfil de Viscosidad de los Extractos acuosos de hojas de <i>Pereskia lychnidiflora</i> a 60 minutos y 90 minutos por extracción asistida por ultrasonido	81
7	<i>Resultados de la viscosidad de una solución de pectina al 5%</i>	83
8	Resultados del Perfil de Viscosidad de las mezclas	85
9	Logaritmo base 10 de los datos de las mezclas	87
10	Resultados de las características organolépticas y físicas de la Mezcla de pectina 5 % y extracto acuoso para estabilidad	89
11	Resultados de la viscosidad de mezcla de estabilidad	89
12	Aporte dietético recomendado	144

INDICE DE ANEXOS

Anexo N°	
1	Sitios de muestreo de material vegetal utilizado
2	Toma y tratamiento de muestra (Naranja)
3	Extracción de pectina (hidrólisis ácida)
4	Identificación de pectina
5	Determinación de grupos metoxilos y ácido galacturónico
6	Procedimientos del análisis químico proximal (Humedad total, materia seca, ceniza, proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda)
7	Procedimientos para la determinación de minerales (fósforo y calcio)
8	Matial (<i>Pereskia lychnidiflora</i>)
9	Extracción asistida por ultrasonido
10	Solución de pectina al 5%
11	Preparación de mezclas (Mezcla M1E60 y Mezcla M2E90)
12	Determinación de la Viscosidad
13	Identificación de material vegetal <i>Citrus aurantium</i>
14	MONOGRAFIA DE PECTINA USP 30
15	Resultados de análisis Bromatológico y minerales
16	Cuadro de ingesta diaria recomendada
17	Cálculos para discusión de resultados de análisis bromatológico y minerales: calcio y fósforo.
18	Reactivos y cristalería
19	Procedimientos para la preparación de reactivos

ABREVIATURAS, SIGLAS Y SIMBOLOGIAS

FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos.
GRAS	Generalmente conocida como segura.
HCl	Ácido clorhídrico
HM	Alto Metoxilo
LM	Bajo Metoxilo
MAG	Ministerio de Agricultura y ganadería.
MSDS	Ficha de datos de seguridad de materiales
NaOH	Hidróxido de sodio
OMS	Organización Mundial para la Salud
USP	Farmacopea de Estados Unidos
OCH₃	Grupo Metoxilo
C₆H₁₀O₇	Ácido Galacturónico
TRAMIL	Proyecto de investigación aplicada sobre la medicina tradicional popular de Haití, de República Dominicana y de las demás islas y costa caribeña del continente

RESUMEN

En este trabajo de grado se estudió el comportamiento de dos mezclas pectina cítrica 5% y extractos acuosos de Matial obtenidos por ultrasonido a 60 y 90 minutos, utilizando hidrólisis ácida y precipitación con alcohol al 90%. Se caracterizó la pectina determinando su porcentaje de ácido galacturónico y grupos metoxilos se utilizó como referencia la monografía de pectina de la USP 30. El resultado obtenido de 87 % y 9.58%, clasificándola como pectina de bajo metoxilo.

Se extrajo el mucilago de hojas de Matial, utilizando 500 g de hojas trituradas y 1 L de agua preservada como solvente, por Extracción asistida por ultrasonido a 60 minutos y 90 minutos como niveles del factor tiempo. Se caracterizaron las hojas por análisis bromatológico y cuantificación de minerales, calcio y fósforo con resultado positivo para proteína cruda en 14.0 y 27.28% ppm, lo que sugiere que las hojas podrían ser ingrediente alimenticio funcional por el contenido de proteína y calcio.

Se prepararon dos mezclas a las que se les realizó un perfil reológico en viscosímetro FUNGILAB ADVANCE-L a una proporción 2:1 solución de pectina al 5 % y Extractos acuosos de Matial, a temperatura promedio de las lecturas fue 13.2 °C, que se logró con baño de hielo por ser afectada la viscosidad, razón por la cual al disminuir la temperatura se vio favorecida la estabilidad. Al ser graficados los datos en programa de ofimática estos la clasifican como fluidos No newtonianos del tipo Pseudoplásticos. Demostrando que las mezclas no tienen la viscosidad necesaria para su utilización en la industria.

Al realizar la estabilidad a tiempo real de mezcla, pectina al 5% de y extracto acuoso de Matial 300 g a una proporción 2:1, permaneció a una temperatura promedio de 25.6 °C y humedad relativa de 46.9%, variables ambientales más

representativas para que la mezcla sea utilizada como espesante, obteniendo el resultado que no hay cambios organolépticos.

Los resultados demuestran que los extractos acuosos de hojas de Matial no tienen las propiedades viscosante necesarias para aumentar la viscosidad de la pectina, por lo cual no se recomienda su utilización como coadyuvante. Sin embargo, se recomienda realizar estudios de obtención de calcio y proteínas en hojas de Matial.

CAPITULO I
INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCION

El siguiente trabajo estudia el comportamiento reológico de dos mezclas de pectina cítrica al 5% con extractos acuosos de hojas de Matial obtenidos por ultrasonido a 60 y 90 minutos.

Los estudios reológicos de los fluidos son de suma importancia durante la fabricación de los productos, principalmente si se trata de espesantes y gelificantes; en primer lugar, porque influyen en los procesos de fabricación y en el diseño de equipos utilizados para este fin, tal es el caso de los sistemas de bombas y tuberías, es ahí donde la viscosidad se convierte en un parámetro crítico que es necesario tener en cuenta para lograr mejoras en la eficiencia de los procesos de fabricación. En segundo lugar, por las características reológicas son parte del control de calidad de las materias primas y de los productos intermedios y terminados de la industria farmacéutica y alimenticia.

Existen muchas fuentes de obtención de espesantes por lo cual uno de los materiales vegetales utilizados para esta investigación fueron las hojas de Matial ya que dicha planta no ha sido estudiada para este uso, del Matial se obtiene a partir de sus hojas un mucílago el cual ha sido clasificado dentro de los hidrocoloides, estos son macromoléculas poliméricas complejas de índole hidrocarbonada que gracias a su estructura altamente ramificada pueden modificar la reología de una solución; por tal motivo se analizó la influencia que tienen estos hidrocoloides en soluciones de pectina al 5% de concentración, la cual ha sido ampliamente utilizada en la industria alimenticia y farmacéutica por sus propiedades absorbentes, estabilizantes y principalmente por aumentar la viscosidad de una solución.

En el estudio adicionalmente se caracterizaron ambas muestras vegetales, para establecer la caracterización de las hojas de Matial, se realizó un análisis bromatológico y la cuantificación de minerales, calcio y fósforo; esto permitió

conocer más a fondo el potencial uso como un hidrocólido alimenticio funcional, alternativo. De igual manera se caracterizó la pectina obtenida a partir de cáscaras de naranja agria, mediante la determinación del porcentaje de ácido galacturónico y de grupos metoxilo.

Los muestreos de naranja agria y Matial se realizaron en los departamentos de La Paz y Santa Ana, respectivamente; aplicando el muestreo por conglomerados para la muestra de naranja agria y muestro al azar para el Matial. Ambas muestras se trasladaron al Laboratorio de Investigación en Productos Naturales para su tratamiento previo y posterior preparación de 2 mezclas, utilizando para ello pectina al 5 % y 2 extractos de Matial obtenidos por el método de extracción asistida por ultrasonido a 60 minutos y 90 minutos, respectivamente.

Se determinó el perfil reológico de 2 mezclas en el Viscosímetro FUNGILAB modelo ADVANCE-L a las velocidades de rotación 0.3, 0.6, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 10, 12, 20, 50 y 100 (RPM) con estos resultados se elaboraron los respectivos reogramas para determinar el comportamiento reológico de cada mezcla, así como el comportamiento presentado por la pectina al 5 % y por cada uno de los extractos de Matial para posterior análisis de sus resultados mediante la elaboración de reogramas utilizando un programa ofimático (Microsoft Office Excel).

Además, se evaluó la estabilidad a tiempo real de una mezcla de pectina al 5% de concentración y extracto acuoso de Matial utilizando 300 g de material vegetal a una proporción 2:1, como estudio predictivo basado en factores extrínsecos e intrínsecos a los que es expuesta una muestra. Esto permite conocer las variaciones en el comportamiento reológico, la cual permanecerá a temperatura y humedad ambiental, para obtener resultados en tiempo real.

CAPITULO II

OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Estudiar el comportamiento reológico de mezclas de pectina cítrica (*Citrus aurantium*) y extractos acuosos de Matial (*Pereskia lychnidiflora*).

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 2.2.1** Caracterizar la pectina extraída de naranja (*Citrus aurantium*) determinando el porcentaje de ácido galacturónico y los grupos metoxilo
- 2.2.2** Efectuar un análisis bromatológico de las hojas de Matial (*Pereskia lychnidiflora*).
- 2.2.3** Obtener extractos acuosos de hojas de Matial (*Pereskia lychnidiflora*) mediante extracción asistida por ultrasonido.
- 2.2.4** Determinar el comportamiento reológico de las mezclas mediante reogramas.
- 2.2.5** Establecer la estabilidad del comportamiento reológico de una mezcla en un periodo de una semana.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1 Monografías

3.1.1 Naranja agria



Figura N°1. *Citrus aurantium*. Fuente autoría propia.

Nombre científico: *Citrus aurantium*

Nombres comunes: Naranja agria, naranja bigarade, naranja andaluza, naranja de Sevilla, naranja cajera, naranja cachorreña. ⁽¹³⁾

Taxonomía:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Sapindales

Familia: Rutaceae

Género: Citrus

Especie: *Citrus aurantium*

Descripción botánica:

Árbol de hasta 6 m de alto con copa redonda, espinas largas y más bien flexibles. Hojas de 7 a 10 cm, agudas a acuminadas; pecíolo anchamente alado. Flores axilares de tamaño mediano, blancas. Fruto de 7 a 8 cm de

diámetro, globoso, algo aplanado en el ápice, con 10 a 12 segmentos; pulpa ácida.

El árbol posee una copa redonda muy ramificada y en las ramas las hojas se disponen en espiral en la base de estas.⁽¹³⁾

Hábitat y distribución geográfica: Nativa de Asia, cultivada en regiones tropicales y subtropicales.

Usos:

De acuerdo con la información disponible:

- El uso para diarrea y flatulencia se clasifica como categoría REC con base en el empleo significativo tradicional documentado en las encuestas TRAMIL y la información científica publicada.
- En los casos de diarrea, se considera este recurso como complementario de la terapia de rehidratación oral. En caso de que se observe un deterioro del paciente o que la diarrea persista por más de 3 días en adultos o más de 2 días en niños, debe buscar atención médica.
- El uso para cólicos, conjuntivitis, dolor de cabeza, fiebre, gripe, parásitos intestinales y tos se clasifica como categoría REC con base en la experiencia tradicional en el uso (OMS/WHO) documentado por su empleo significativo en las encuestas TRAMIL.
- Toda aplicación en los ojos debe seguir las más estrictas medidas higiénicas, para impedir la contaminación o infección sobreañadida y evitar el contacto con sustancias irritantes para la conjuntiva.
- Existe el riesgo de aumentar la irritación por la aplicación del zumo de *Citrus spp.*

- En caso de que se observe un deterioro del paciente, que la fiebre persista por más de 2 días, la conjuntivitis o dolor de cabeza por más de 3 días, debe buscar atención médica.
- Los riesgos de la interacción con ciclosporina, se debe evitar la ingesta de la decocción del fruto en personas que toman este medicamento.
- El aceite esencial de la planta puede producir reacciones de hipersensibilidad. ⁽¹⁵⁾

Composición química:

La hoja contiene aceite esencial: linalool (11 %), acetato de linalool; flavonoides: neodiosmina, neohesperidina, naringina y roifolina.

La semilla tiene diversos triterpenos; el fruto contiene triterpenos: limonina, nomilina y ácido nomilínico y un alcaloide isoquinolínico: sinefrina.

La pulpa del fruto presenta grandes cantidades de ácidos orgánicos (cítrico y málico principalmente) y de vitamina C; el pericarpio posee pectina.

La flor contiene aceite esencial («neroli») 0.05-0.5 %, limoneno, linalool, nerol y antranilato de metilo.

El pericarpio ha sido ampliamente estudiado y contiene, entre otros componentes flavonoides: naringenina, hesperidina, neohesperidina¹⁵; aceite esencial («curaçao») 2 %: limoneno (90 %). ⁽¹³⁾

Análisis proximal de 100 g de fruto: hecho

Calorías: 44; agua: 87.5 %; proteínas: 0.7 %; grasas: 0.1 %; carbohidratos: 11.2 %; fibras: 2 %; ceniza: 0.5 %; calcio: 42 mg; fósforo: 20 mg; hierro: 0.4 mg; caroteno; 70 µg; tiamina; 0.07 mg; riboflavina: 0.03 mg; niacina; 0.3 mg; ácido ascórbico; 43 mg.

Toxicidad:

La decocción de fruto administrada (1 L/día) juntamente con ciclosporina (10 mg/kg) por vía oral a cerdo, aumentó la concentración máxima en 64% y la biodisponibilidad de ésta; en el 20% de los animales aparecieron signos de intoxicación aguda por ciclosporina.

El extracto acuoso de fruto (500 µg/mL) *in vitro*, causó actividad citotóxica pero no mostró actividad embriotóxica. Los extractos acuoso y metanólico de fruto inmaduro (50 mg peso seco/disco) no mostraron actividad mutagénica, con y sin activación metabólica, en el cultivo en placa de agar de *Salmonella typhimurium* cepas TA98 y TA100. Los extractos acuoso y metanólico de fruto seco inmaduro (100 mg/mL) en placa de agar, no mostraron actividad mutagénica sobre *Bacillus subtilis* H17 y *Salmonella typhimurium* TA98 y TA 100 con y sin activación metabólica.

No se dispone de información que documente la seguridad de su uso medicinal en niños, durante el embarazo o la lactancia.⁽¹⁵⁾

MORFOLOGÍA DE FRUTO

Epicarpio: Porción externa de la cáscara, también se le conoce como flavedo (Figura N°2), aquí se encuentran los carotenoides, las glándulas oleosas que contienen los aceites esenciales característicos de cada cítrico.

Mesocarpio: Se localiza inmediatamente debajo del epicarpio, también se le llama albedo (Figura N°2). Es una capa blanca esponjosa que varía en espesor en los diferentes tipos de cítricos y consiste en dos largas células ricas en sustancias pecticas y hemicelulosas. Esta capa cubre completamente al endocarpio, el cual es la porción comestible de los cítricos. Ambos, el flavedo y el albedo conforma el pericarpio, comúnmente conocido como la corteza o cáscara de la fruta.

Endocarpio: La parte comestible de las frutas cítricas está compuesta por muchos segmentos, dentro de los cuales se encuentran las vesículas de jugo (Ver Figura N°2). ⁽⁶⁾

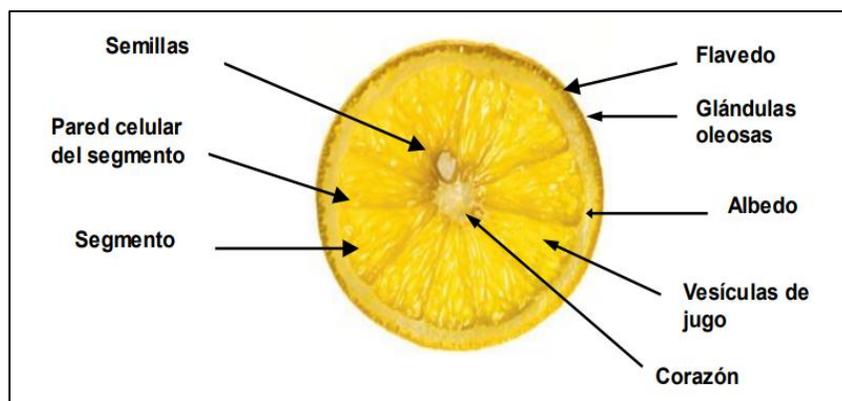


Figura N° 2. Sección transversal del fruto de *Citrus aurantium*. ⁽⁶⁾

3.1.2 Matial



Figura N° 3. *Pereskia lychnidiflora*. Fuente autoría propia.

Nombre científico: *Pereskia lychnidiflora* DC.

Nombre común: Matial, espina de Matial, tirabuzón.

Taxonomía:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Caryophyllales

Familia: Cactaceae

Subfamilia: Pereskioideae

Género: Pereskia

Especie: *P. lychnidiflora* DC

Descripción botánica:

Árbol o arbusto de hasta 15 m de altura; tallos jóvenes con ramificación monopódica, al madurar con ramificación subverticilada, horizontal a difusa; tronco 30-40 cm de ancho. Hojas 1-2(-3) por aréola, (1-) 2-8(-10) × 1-4(-5) cm, obovadas, suborbiculares, elípticas u oblanceoladas, algo carnosas, sésiles; nervadura pseudopalmada con la vena central bien definida, verdes; aréolas 3-5 mm, con pelos moreno-grisáceos claros, con tricomas en plantas jóvenes; espinas 1-3, más numerosas en las aréolas del tronco, (1-)2-7(-9) cm, más cortas y delgadas en las ramas jóvenes, aciculares, subuladas cuando maduran, amarillas o rojizas en los brotes jóvenes, volviéndose grisáceas.

Flor terminal o lateral de color anaranjado, diurna, con 1 o varias hojas; receptáculo 1-1.5 × 2 cm, las brácteas 10-20, sésiles, las aréolas con tricomas y a veces 1 espina corta; tépalos externos cerca de 3 × 3 mm, erectos, ampliamente obovados o deltoides, los más internos cerca de 6 × 6 mm, verdes a verde-rojizos; tépalos internos 10-20, cerca de 2 × 0.8-1.5 cm, obovados, amarillos, anaranjados antes de la antesis, después anaranjados a rojos, el ápice emarginado hendido. Fruto 2.5-4 cm de ancho, globoso, amarillo con tinte rojizo, oloroso, las brácteas deciduas. Semillas negras. ^{(3),(15)}

Datos ecológicos donde habita: Crece en Bosque Seco Tropical, Bosque Húmedo Subtropical y en transición a Subhúmedo, caracterizada por crecer naturalmente en zonas bajas y cultivadas para delimitar terrenos. En El Salvador se reporta creciendo desde 0 hasta 772 m de altitud. La floración se

observa entre los meses de mayo a septiembre y la fructificación entre los meses de agosto a febrero.

Distribución: Reportada desde sur de México a Costa Rica. En El Salvador se encuentra ampliamente distribuida. Ejemplares representativos: Departamento: Ahuachapán; La Libertad; Santa Ana (Figura N° 4). ⁽³⁾

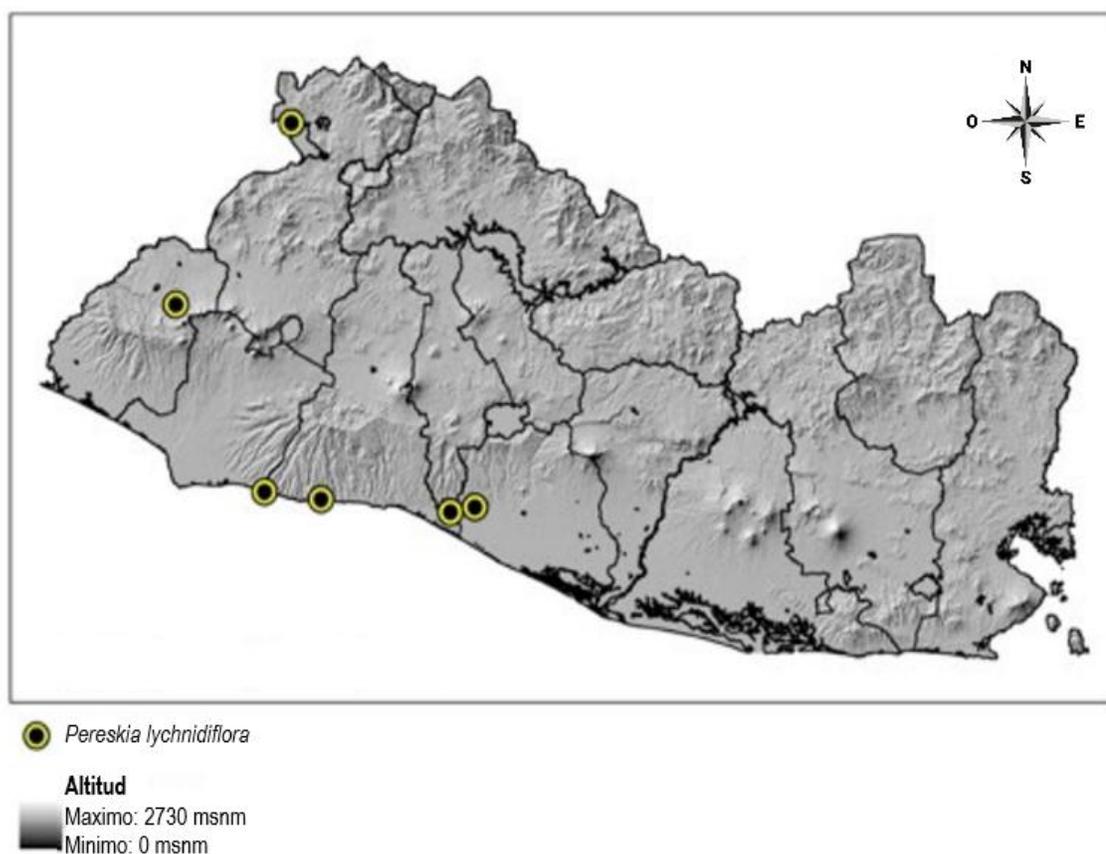


Figura N° 4 Mapa de distribución de *Pereskia lychnidiflora* en El Salvador. ⁽³⁾

Usos:

- En El Salvador esta especie es utilizada como cerca viva y como medicinal. ⁽³⁾
- Posee una actividad analgésica similar al Ibuprofeno. ⁽¹²⁾

Composición química: Poco estudiada; sus hojas contienen presencia de alcaloides, taninos, triterpenos y esteroides como mayores constituyentes químicos. ⁽¹²⁾

Toxicidad: No se observaron signos de toxicidad aguda en los ratones de experimentación y se clasifica el extracto etanólico de la hoja como no tóxico con una DL50 mayor de 2000 mg/kg. ⁽¹²⁾

3.2 Cactaceae

Dentro de las cactáceas existen alrededor de 35 especies que tienen potencial como cultivo para obtención de frutos, vegetales o forraje. Las cactáceas pertenecen al orden Caryophyllales. Su ubicación filogenética dentro de este orden es indisputable, debido a que las cactáceas y las otras familias en este orden comparten características (sinamorfismos) que no ocurren en ningún otro orden de los angiospermas. Uno de estos sinamorfismos es la presencia de betalaínas, un tipo de pigmentos nitrogenados derivados de la tirosina.

Las cactáceas comestibles se pueden clasificar en tres tipos: las *Tunas*, las *Pitayas* (trepadoras) y las *Pereskias* (columnares). Existen alrededor de 100 especies, principalmente del género *Opuntia*, del cual se obtienen frutos comestibles y su cultivo se logra en terrenos áridos, donde pocas plantas pueden sobrevivir. ⁽⁷⁾

El género *Pereskia* (Cactaceae) está constituido por 17 especies ampliamente distribuidas en los bosques secos del Caribe, Centro y Sudamérica. Desde el punto de vista fitoquímico este género ha sido poco estudiado y entre las especies más investigadas se encuentran *Pereskia aculeata*, *P. bleo* y *P. grandifolia*, de las que se ha reportado la presencia de fitoesteroides, y terpenoides únicamente en *P. aculeata* y *P. bleo*. De manera similar, se han reportado compuestos fenólicos y alcaloides en *P. grandiflora* y *P. bleo*.

Algunas especies del género *Pereskia* han sido utilizadas en diversas partes del mundo por sus propiedades medicinales como antisifilítico, emoliente y para el tratamiento de enfermedades inflamatorias y de la piel. Asimismo, se han utilizado para tratar enfermedades relacionadas con el cáncer, dolor de cabeza, dolor de estómago, úlceras gástricas, hemorroides, dermatitis, diabetes, hipertensión, reumatismo, inflamaciones, y como un tónico para revitalizar el cuerpo, trastornos gastrointestinales, afecciones en la piel, dolor de oído y dolor muscular. Algunas investigaciones sugieren que este género presenta actividad analgésica en modelos animales de dolor agudo por estímulo químico con ácido acético y formalina, y en El Salvador, las hojas de *Pereskia lychnidiflora* conocidas como «matial» son utilizadas como analgésicos. ⁽¹²⁾

3.3 Pectina

La pectina es una sustancia natural que se forma principalmente en la pared primaria y en los tejidos mesenquimáticos y parenquimáticos de frutos y vegetales, y tiene la función de cemento intercelular.

La pectina fue aislada por primera vez por el químico francés Henri Braconnot en 1825, quien la designó como “pectina”, que deriva del griego pektikos, que significa congelar o solidificar.

La pectina forma coloides por excelencia, ya que tiene la propiedad de absorber una gran cantidad de agua, pertenecen a la familia de los oligosacáridos y polisacáridos de alto peso molecular y contienen largas cadenas formadas por unidades de 1,4- α -D-ácido galacturónico (GalpA). Tres polisacáridos pécticos (homogalacturona, rhamnogalacturona-I y galacturonas sustituidas) han sido separados y caracterizados y todos con tienen GalpA en mayor o menor cantidad. Hasta hace poco se ha aceptado que los polisacáridos homogalacturona y rhamnogalacturona-I son los constituyentes principales de los polímeros pécticos, como se muestra en la figura N° 5.

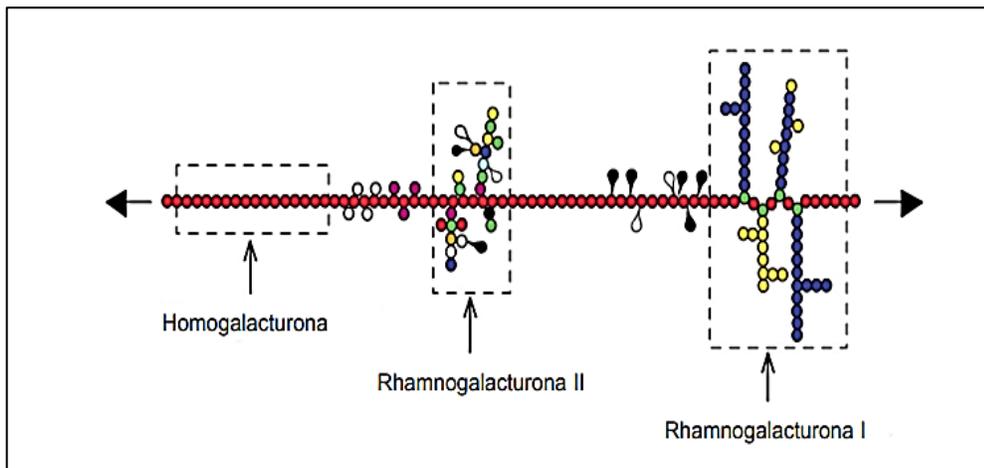


Figura N° 5. Estructura básica de la pectina. (4)

En las frutas, la mayoría de los grupos ácidos del ácido galacturónico están esterificados por metanol. Este metanol puede perderse con relativa facilidad por hidrólisis ácida o enzimática, dejando el grupo ácido libre. En función del porcentaje de restos de ácido galacturónico esterificado las pectinas se clasifican como de alto metoxilo cuando este porcentaje es superior al 65% y de bajo metoxilo cuando es inferior.

Para fines industriales, las fuentes de obtención de las pectinas se restringen principalmente a las cáscaras de los frutos cítricos (20-35%), infrutescencia del girasol (15-25%), remolacha (10-20%) y pulpa de manzana (10-15%).

La pectina es ampliamente usada como ingrediente funcional en la industria de los alimentos y como fuente de fibra dietética, debido a su habilidad para formar geles acuosos. Los geles de pectina son importantes para crear o modificar la textura de compotas, jaleas, salsas, ketchup, mayonesas, confites; en la industria láctea para la fabricación de yogures frutados y productos lácteos bajos en grasa, en la industria de bebidas dietéticas para la preparación de refrescos, debido a su bajo contenido de carbohidratos, por sus propiedades estabilizantes y por incrementar la viscosidad. La pectina tiene efectos

beneficiosos en la salud por ello, tiene importantes aplicaciones en la industria farmacéutica y cosmética.

Es empleada como ingrediente en preparaciones farmacéuticas como antidiarreico, desintoxicantes y algunas drogas son encapsuladas con una película de pectina para proteger la mucosa gástrica y permitir que el componente activo se libere en la circulación de la sangre. Las pectinas se emplean también como agentes absorbentes de lipoproteínas (productos farmacéuticos para bajar de peso) y últimamente se está investigando su aplicación como membranas biopoliméricas cicatrizantes. ⁽⁴⁾

Desde el punto de vista de la tecnología alimentaria la propiedad más importante de las pectinas es su aptitud para formar geles. Los geles consisten en moléculas poliméricas con enlaces entrecruzados para formar una red interconectada y tupida inmersa en un líquido. En geles de pectina y otros sistemas de alimentos conteniendo pectina, este líquido es agua. Las propiedades del gel son el resultado neto de interacciones complejas entre el soluto y solvente. La influencia del agua como solvente, la naturaleza y magnitud de las fuerzas intermoleculares que mantienen la integridad del gel permiten tener una gran capacidad de retención de agua.

En la mayoría de los geles alimentarios, los enlaces entrecruzados en la red no son puntos de interacción ya que incluyen segmentos extensos a partir de dos o más moléculas poliméricas, generalmente en estructuras bien definidas llamadas zonas de unión que son estabilizadas por una combinación de fuerzas intermoleculares débiles. Individualmente estas fuerzas son suficientes para mantener la integridad estructural de las zonas de unión, pero su efecto es acumulativo y le imparte estabilidad termodinámica. Las fuerzas intermoleculares estabilizantes de la red del gel son los enlaces de puentes de hidrógeno y las interacciones.

Las pectinas están clasificadas como de alto metoxilo (HM) y bajo metoxilo (LM), dependiendo del grado de esterificación (DE). La separación entre HM y LM es arbitraria del 40 al 50% de DE.

Set rápido y set lento son designaciones de la pectina referidas a la relación en que una estructura incipiente de jalea desarrolla una estructura a la temperatura de gelificación. Su ritmo de gelificación influencia la textura del producto. Las pectinas HM son también de set rápido o lento. El ritmo de gelificación disminuye cuando disminuye el grado de esterificación. Ritmos intermedios conducen a designaciones tales como rápido-set medio, set lento medio, etc., Los geles de pectina de HM son más rápidos en alcanzarse que los de LM. Los geles de pectinas HM con alto grado de esterificación se alcanzan más rápidamente que los de pectinas HM con menor grado de esterificación bajo el mismo gradiente de enfriamiento.

La viscosidad de las soluciones de pectina de HM es muy dependiente del número de variables, grado de esterificación, longitud de la molécula, concentración de electrolitos, pH y temperatura. Concentraciones diferentes de un azúcar y diferentes azúcares afectan a la viscosidad de manera diferente. La viscosidad se incrementa marcadamente a medida que la temperatura se acerca a la temperatura de ebullición.

El peso molecular de la pectina, relacionado con la longitud de la cadena, es una característica muy importante de la que dependen la viscosidad de sus disoluciones y su comportamiento en la gelificación de las jaleas.

Las pectinas industriales parten de diferentes tejidos botánicos que quizá contienen diferentes estructuras de pectina. Otra posible variación en la estructura de las pectinas está en la distribución de grupos metil-éster alrededor de la cadena. Las pectinas de cítricos pueden ser extraídas con un DE de hasta el 75% mientras que las de manzana contienen al menos un 80%. El mercado

de la pectina ha estado muy ligado a la industria de conservación desde sus comienzos y la característica más importante en el uso de la pectina ha sido su poder gelificante. El origen de la materia prima empezó en los años 20 y 30 a partir de gran cantidad de residuos producidos por la industria sidrera y de zumo de manzana.

Comercialmente la pectina se extrae tratando la materia prima con ácido, caliente y diluido a pH bajo. El intervalo preciso de tiempo varía con la materia prima, el tipo de pectina deseada y de una factoría a la otra. La pectina caliente extraída se separa del residuo sólido de la manera más eficiente posible. Esto no es fácil ya que los sólidos son blandos y la fase líquida es viscosa, incrementándose con la concentración de pectina y el aumento de su peso molecular. Hay una vinculación entre la extracción eficiente y la separación de los sólidos (ambos procesos favorecidos por una gran cantidad de líquido) con el coste operacional (favorecido por producir un extracto más concentrado). El extracto de pectina puede ser posteriormente clarificado mediante filtración a través de un filtro de kielseguhr.

La pectina de manzana aún en fase líquida es tratada con α -amilasa para degradar el almidón que podría precipitar a partir del líquido. También se añade carbón activo con el fin de eliminar el color. El extracto clarificado se concentra al vacío y preserva a la pectina de su degradación. La pectina en polvo se produce mezclando el líquido concentrado con alcohol (isopropanol, metanol o etanol). La pectina se separa como una masa gelatinosa que se prensa, lava y elimina de las aguas madres. Más tarde se seca y se muele. ⁽¹⁰⁾

3.4 ANÁLISIS BROMATOLÓGICO ⁽²⁰⁾

Los análisis comprendidos dentro de este grupo, también conocido como análisis proximales Weende, se aplican en primer lugar a los materiales que se usarán para formular una dieta como fuente de proteína o de energía y a los

alimentos terminados, como un control para verificar que cumplan con las especificaciones o requerimientos establecidos durante la formulación. Estos análisis nos indicarán el contenido de humedad, proteína cruda (nitrógeno total), fibra cruda, lípidos crudos, ceniza.

El análisis bromatológico proximal consta de 7 partes en general que son:

- Humedad (%)
- Proteína Cruda (%)
- Grasa (%)
- Fibra Cruda (%)
- Carbohidratos (%)
- Cenizas (%)
- Minerales (%)

3.4.1 Humedad

Durante el balanceo de la ración, es fundamental conocer el contenido de agua en cada uno de los elementos que la compondrán; así mismo, es necesario vigilar la humedad en el alimento preparado, ya que niveles superiores al 8% favorecen la presencia de insectos y arriba del 14%, existe el riesgo de contaminación por hongos y bacterias. El método se basa en el secado de una muestra en un horno y su determinación por diferencia de peso entre el material seco y húmedo.

3.4.2 Proteína cruda

Por su costo es este el nutriente más importante en la dieta en una operación comercial; su adecuada evaluación permite controlar la calidad de los insumos proteicos que están siendo adquiridos o del alimento que se está suministrando. Su análisis se efectúa mediante el método de Kjeldahl, mismo que evalúa el

contenido de nitrógeno total en la muestra, después de ser digerida con ácido sulfúrico en presencia de un catalizador de mercurio o selenio.

3.4.3 Fibra cruda

Este método permite determinar el contenido de fibra en la muestra, después de ser digerida con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio y calcinado el residuo. La diferencia de pesos después de la calcinación nos indica la cantidad de fibra presente. ⁽²⁰⁾

3.4.4 Carbohidratos

Los carbohidratos, también llamados glúcidos, se pueden encontrar casi de manera exclusiva en alimentos de origen vegetal. Constituyen uno de los tres principales grupos químicos que forman la materia orgánica junto con las grasas y las proteínas. ⁽²¹⁾

3.4.5 Ceniza

El método aquí presentado se emplea para determinar el contenido de ceniza en los alimentos o sus ingredientes mediante la calcinación. Se considera como el contenido de minerales totales o material inorgánico en la muestra.

3.4.6 Calcio

La evaluación de calcio en la dieta reviste una gran importancia ya que un desbalance con el fósforo u otros minerales generará un bajo crecimiento.

3.4.7 Fósforo

Al igual que el calcio, este mineral es indispensable para el buen desarrollo de los organismos cultivados, debiendo estar presente en las dietas en cantidades suficientes para satisfacer las necesidades metabólicas de los organismos. Este

elemento en proteínas de origen vegetal puede estar formando parte de fitatos, por lo cual su disponibilidad puede estar limitada, por lo que se recomienda una determinación de ácido fítico previa al uso de tales materiales. ^{(20) (21)}

3.5 REOLOGÍA

La reología estudia las propiedades de los fluidos y de la deformación de la materia, tras la acción de fuerzas externas. Este término proviene del griego *rein*, que significa fluir. Podríamos definir el fluido como cualquier sustancia a la que la aplicación de una tensión tangencial le produce una velocidad de deformación que depende de la tensión aplicada y de las características intrínsecas del fluido.

Existen dos extremos en el comportamiento reológico:

- a. comportamiento elástico, la capacidad de una formulación para recuperar su forma original cuando la fuerza externa desaparece, y
- b. comportamiento viscoso, cuando la acción de la fuerza cesa, el estado de deformación permanece.

3.5.1 Fluidos newtonianos y no newtonianos:

3.5.1.1 Concepto de viscosidad

Cuando un fluido se somete a una determinada fuerza este se mueve venciendo la resistencia debida al rozamiento de unas moléculas con otras. La viscosidad representa la resistencia de las capas de un líquido a fluir. Para entender el concepto de un modo simple imaginemos el fluido dividido en infinitos planos paralelos que pueden desplazarse unos sobre otros (como sucedería en una baraja de cartas). Si aplicamos una fuerza tangencial sobre la capa superior cada una de las capas se moverá a una velocidad gradualmente inferior, permaneciendo las capas inferiores inmóviles.

3.5.1.2 Unidades de la viscosidad

En el sistema internacional es el pascal por segundo (Pa x s), aunque en general se usa la mili pascal por segundo (mPa x s), que equivale a un centipoise (cP), que es la centésima parte del poise (dina x s x cm²), unidad del sistema cegesimal (CGS):

$$1\text{Pa} \times \text{s} = 1 \frac{\text{N} \times \text{s}}{\text{m}^2} = 10\text{P (poise)} = 10^3\text{cP}$$

3.5.1.3 Factores que afectan a la viscosidad

La viscosidad puede modificarse principalmente por tres factores: el gradiente de velocidad de deformación, la temperatura y la presión:

1. Variación de la viscosidad con la velocidad de deformación.

Dicha variación permite clasificar los diferentes tipos de fluidos que se pueden encontrar desde el punto de vista reológico.

2. Influencia de la temperatura en la viscosidad.

En general, la viscosidad disminuye al aumentar la temperatura. Al aumentar la temperatura, las fuerzas viscosas son superadas por la energía cinética, dando lugar a una disminución de la viscosidad.

3. Variación de la viscosidad con la presión.

La viscosidad en líquidos aumenta exponencialmente con la presión. El único caso en que disminuye la viscosidad es el agua a temperaturas inferiores a 30° C. ⁽²⁸⁾

3.5.1.4 CLASIFICACIÓN REOLÓGICA DE LOS FLUIDOS

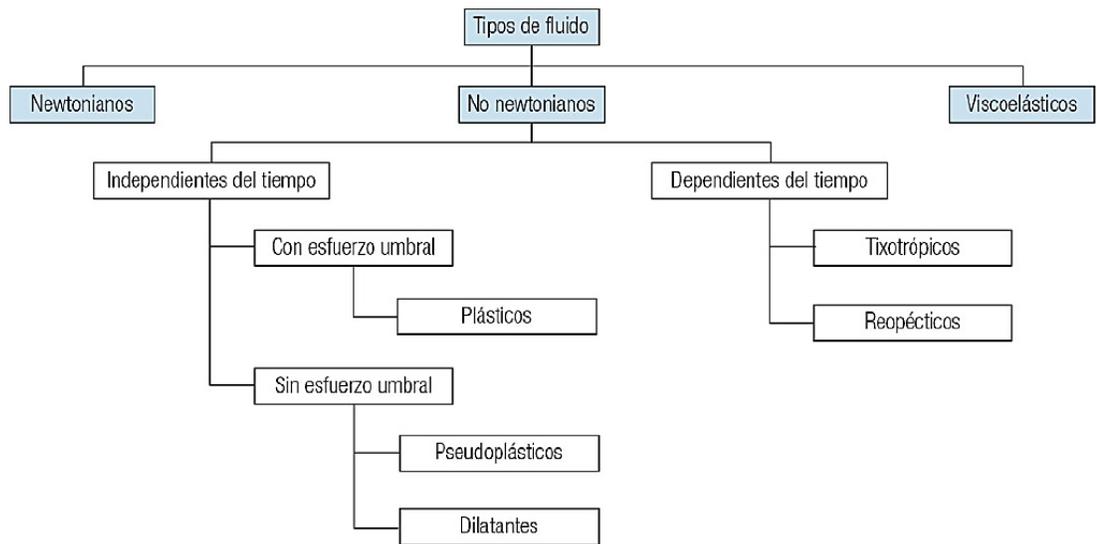


Figura N° 6 Clasificación general de los tipos de fluidos en función de sus propiedades reológicas. (28)

- Fluidos newtonianos o fluido ideal

Un líquido ideal es frecuentemente referido como un líquido Newtoniano, es decir: es incompresible (su volumen no cambia con la fuerza aplicada), isotrópico (propiedades iguales en todas las direcciones), estructuralmente es homogéneo y su viscosidad puede variar en función de la temperatura, pero no varía según la tasa de cizalladura y el tiempo.

- Fluidos No newtonianos

a) Independientes del tiempo

- **Fluidos pseudoplástico.** Es el comportamiento más común exhibido por los alimentos líquidos. Este se manifiesta como un decrecimiento en la

viscosidad aparente a medida que la tasa de cizalladura es aumentada y comúnmente es referido como "*Shear thinning*". Este comportamiento de flujo puede ocurrir por diferentes razones, por ejemplo, polímeros pueden alinearse con el campo de flujo, los enlaces de las moléculas de los solventes pueden ser removidos o las partículas agregadas pueden romperse.

- **Fluidos dilatantes.** Es un tipo de comportamiento menos común que el pseudoplástico. Este se manifiesta por un incremento en la viscosidad aparente a medida que la tasa de cizalladura por cortante es aumentada y por consiguiente algunas veces es referido como "*Shear thickening*".
- **Fluidos plásticos.** Exhiben un valor conocido como valor de cedencia, el cual es referido como el valor del esfuerzo cortante que debe ser aplicado antes de que el fluido fluya o presente un movimiento. Por ejemplo: cremas de dientes, salsas y pastas de tomate y cremas de manos.

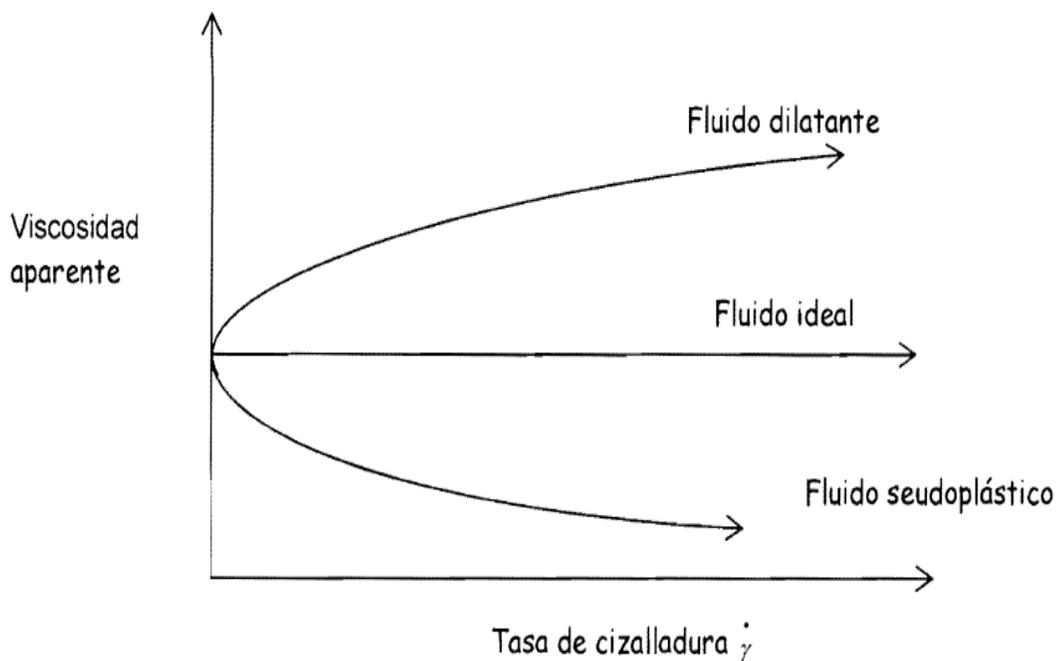


Figura N° 7 Comportamiento reológico cuando la viscosidad no varía en el tiempo. ⁽²⁸⁾

En la Figura N° 7, se muestra el comportamiento reológico de fluidos no Newtonianos, según su dependencia con la tasa de cizalladura para una temperatura constante.

b) Dependientes del tiempo

- **Fluidos tixotrópicos.** Es un fluido en el cual la viscosidad aparente decrece con el tiempo cuando es sujeto a una tasa de cizalladura constante (*respuesta tixotrópica*). Fluidos de esta clase son considerados como pequeñas partículas agregadas y unidas por fuerzas débiles. Cuando el fluido es sometido a un esfuerzo cortante ocasiona que las partículas de agregados sean distorsionadas, ofreciendo así menos resistencia al flujo por lo que la viscosidad decrece con el tiempo hasta que un valor constante se alcanza.

Este valor constante puede corresponder al punto donde la razón de la distorsión estructural del fluido es igual a la razón de reformación estructural, o a la condición en la cual no hay más estructura para ser fracturada. Una vez la fuerza cortante es removida, los agregados pueden reestructurarse con el tiempo, a medida que las partículas colisionan unas con otras debido al movimiento Browniano. Un ejemplo típico de este comportamiento es el yogurt.

- **Fluidos reopécticos.** En algunos alimentos la viscosidad aparente del fluido puede incrementar con el tiempo cuando es sujeto a una tasa de cizalladura constante (*respuesta reopéctica*). Hay muchas razones diferentes para este tipo de comportamiento. Una de las más importantes es que el incremento del esfuerzo cortante incrementa las frecuencias de colisiones entre partículas, que pueden llevar a aumentar los agregados y, consecuentemente, un incremento de la viscosidad aparente.

En algunos fluidos, la dependencia transitoria de las propiedades reológicas es irreversible; una vez que el esfuerzo por cortante es removido, el sistema no vuelve a sus propiedades reológicas iniciales. Fluidos que experimentan un cambio permanente son llamados reodestructivos.

Este tipo de comportamiento puede ocurrir cuando los agregados de partículas son permanentemente distorsionados y no se reforman con el tiempo. Los fluidos tixotrópicos son muy comunes en la industria química y de alimentos; sin embargo, fluidos reopécticos son muy escasos.

En la Figura 8, se muestra el comportamiento reológico típico de estos tipos de fluidos.

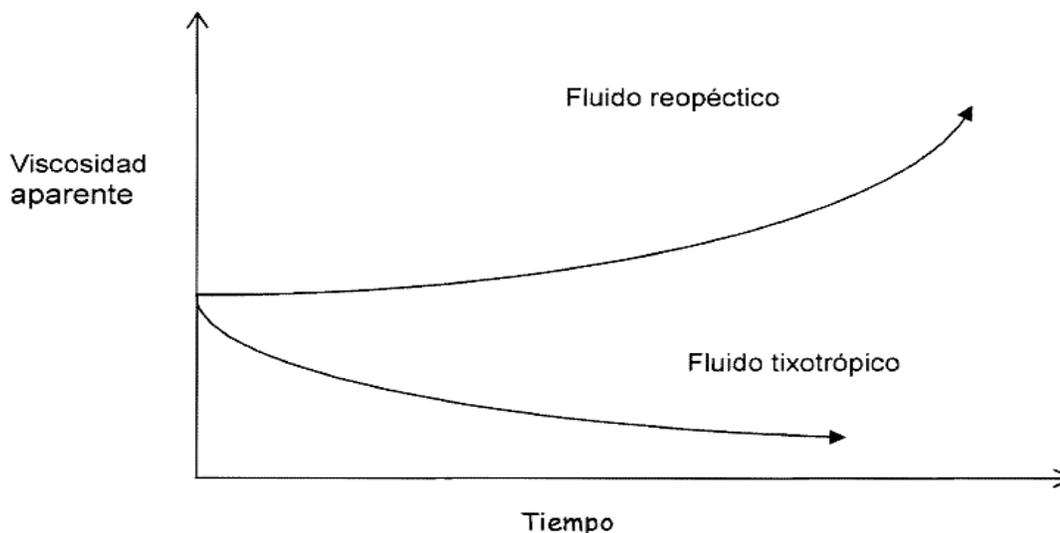


Figura N° 8 Comportamiento reológico cuando la viscosidad varía en el tiempo. ⁽²⁸⁾

La tixotropía en fluidos es relacionada con el colapso estructural "*Estructural breakdown*", que sufre el fluido bajo deformación del gradiente de velocidad, lo cual presupone algunos procesos microscópicos o moleculares que cambian la consistencia del fluido. Cuando un fluido es sometido a una tasa de cizalladura, las fuerzas hidrodinámicas pueden ser suficientemente grandes para romper los enlaces entre partículas, lo que conlleva a una reducción del tamaño de las unidades estructurales asociadas, traduciéndose en menos resistencia contra el flujo y la pérdida de la viscosidad con el tiempo. ⁽²⁸⁾

3.6 ESTUDIOS DE ESTABILIDAD

3.6.1 Tipos de estudio de estabilidad:

- **Estabilidad preliminar:** Esta prueba también es conocida como Prueba de Selección, Estabilidad Acelerada o de Corto Plazo, tiene como objetivo auxiliar y orientar en la elección de las formulaciones.

- **Estabilidad a tiempo real:** Este es realizado por el tiempo total del periodo de eficacia propuesto y en condiciones de temperatura y humedad determinadas por la naturaleza del producto.
- **Estabilidad Acelerada:** También conocida como Estabilidad Normal o Exploratoria tiene como objetivo proporcionar datos para prever la estabilidad del producto, tiempo de vida útil y compatibilidad de la formulación con el material de acondicionamiento.
- **Prueba de anaquel:** También conocida como Estabilidad de Larga Duración o Shelf life, tiene como objetivo validar los límites de estabilidad del producto y comprobar el plazo de validez estimado en la prueba de estabilidad acelerada.

La estabilidad es relativa, pues varía con el tiempo y en función de factores que aceleran o retardan alteraciones en los parámetros del producto.

Cada componente, activo o no, puede afectar la estabilidad de un producto. Variables relacionadas a la formulación, al proceso de fabricación, al material de acondicionamiento y a las condiciones ambientales y de transporte pueden influenciar en la estabilidad del producto.

Conforme el origen, las alteraciones pueden ser clasificadas como extrínsecas, cuando son determinadas por factores externos; o intrínsecas, cuando son determinadas por factores inherentes a la formulación.

a) Factores extrínsecos

Se refieren a factores externos a los cuales el producto está expuesto, tales como:

- **Tiempo:** El envejecimiento del producto puede llevar a alteraciones en las características organolépticas, fisicoquímicas, microbiológicas y toxicológicas.

- **Temperatura:** Temperaturas elevadas aceleran reacciones fisicoquímicas y químicas, ocasionando alteraciones en: la actividad de componentes, viscosidad, aspecto, color y olor del producto.
Bajas temperaturas aceleran posibles alteraciones físicas como turbiedad, precipitación, cristalización. Problemas generados, en función de temperaturas elevadas o muy bajas, también pueden ser resultantes de disconformidades en el proceso de fabricación, almacenamiento o transporte del producto.
- **Luz y Oxígeno:** La luz ultravioleta, juntamente con el oxígeno, origina la formación de radicales libres y desencadena reacciones de óxido-reducción. Los productos sensibles a la acción de la luz deben ser acondicionados en lugares protegidos, en frascos opacos u oscuros y deben ser adicionadas substancias antioxidantes en la formulación, con el propósito de retardar el proceso oxidativo.
- **Humedad:** Pueden ocurrir alteraciones en el aspecto físico del producto, volviéndolo blando, pegajoso, o modificando su peso o volumen, como también contaminación microbiológica.
- **Material de Acondicionamiento:** Los materiales utilizados para el acondicionamiento de los productos, como vidrio, papel, metal y plástico pueden influenciar en la estabilidad.
- **Microorganismos:** Los productos más susceptibles a la contaminación son los que presentan agua en su formulación.

b) Factores intrínsecos

Son factores relacionados a la propia naturaleza de las formulaciones y sobre todo a la interacción de sus ingredientes entre sí y/o con el material de acondicionamiento. Resultan en incompatibilidades de naturaleza física o química que pueden, o no, ser visualizadas por el consumidor.

- **Incompatibilidad Física:** Ocurren alteraciones, en el aspecto físico de la formulación, observadas por: precipitación, separación de fases, cristalización, formación de grietas, entre otras.

- **Incompatibilidad Química:**
 - a) **pH:** Se deben compatibilizar tres diferentes aspectos relacionados al valor del pH estabilidad de los ingredientes de la formulación, eficacia y seguridad del producto.
 - b) **Reacciones de Óxido-Reducción:** Ocurren procesos de oxidación o reducción llevando a alteraciones de la actividad de las sustancias activas, de las características organolépticas y físicas de las formulaciones.
 - c) **Reacciones de Hidrólisis:** Suceden en la presencia del agua, siendo más sensibles las sustancias con funciones éster y amida. Cuanto más elevado es el contenido de agua en la formulación, es más probable que se presente este tipo de reacción.
 - d) **Interacción entre los ingredientes de la formulación:** Son reacciones químicas indeseables que pueden ocurrir entre ingredientes de la formulación anulando o alterando su actividad.
 - e) **Interacción entre ingredientes de la formulación y el material de acondicionamiento:** Son alteraciones químicas que pueden acarrear modificación a nivel físico o químico entre los componentes del material de acondicionamiento y los ingredientes de la formulación.

3.6.2 Parámetros de evaluación en la estabilidad:

- a) **Parámetros Organolépticos:** Aspecto, color, olor y sabor, cuando sea aplicable.
- b) **Parámetros Fisicoquímicos:** Valor de pH, viscosidad, densidad, y en algunos casos, el monitoreo de ingredientes de la formulación.
- c) **Parámetros Microbiológicos:** Conteo microbiano. ⁽²⁰⁾

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4.1 TIPO DE ESTUDIO

Estudio experimental: Se llevó a cabo el tratamiento previo, extracción y caracterización de pectina de Naranja agria y preparación de extractos acuosos de Matial, en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPN) de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador. Una vez obtuvimos la pectina cítrica y los extractos acuosos de Matial, elaboramos dos mezclas de estos. Posteriormente se desarrolló el perfil reológico de las mezclas en las instalaciones del Laboratorio de Físicofarmacia de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador. Se estudió la estabilidad a tiempo real de una mezcla, luego se realizó el análisis bromatológico y cuantificaciones de minerales: calcio y fosforo de las hojas frescas de Matial en las instalaciones del Laboratorio de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador.

Estudio exploratorio: No hay investigaciones sobre el comportamiento reológico de mezclas de pectina y extractos acuosos de Matial y tampoco estudios bromatológicos de las hojas de Matial.

Estudio prospectivo: Los resultados de esta investigación servirán para futuros estudios relacionados con el comportamiento reológico de mezclas de pectina y extracto acuoso de Matial, así como de bases para futuros estudios bromatológicos de las hojas de Matial.

4.2 INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA

Se consultó las siguientes bibliotecas:

- “Dr. Benjamín Orozco”, Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

- Central de Universidad de El Salvador.
- Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas de la Universidad de El Salvador.
- Internet.

4.3 INVESTIGACIÓN DE CAMPO

Universo

- **Naranja**

Cultivos de árboles de naranja de la especie *Citrus aurantium* del municipio de San Pedro Nonualco, departamento de La Paz.

- **Matial**

Arbustos de *Pereskia lychnidiflora* que crecen en el cantón de La Laguna, municipio de El Congo, departamento de Santa Ana.

Muestra

- **Naranja**

La muestra consistió en el flavedo y albedo del fruto del naranjo *Citrus aurantium*.

- **Matial**

La muestra corresponde a las hojas de los arbustos de *Pereskia lychnidiflora*.

Cuadro N°1. Figuras representativas usadas para el estudio.

Nombre científico	Figura representativa del árbol/arbusto	Figura representativa que se muestreó	Figura representativa que se utilizó para el estudio
<i>Citrus aurantium</i>	Árbol 	Fruto 	Flavedo y albedo 
<i>Pereskia lychnidiflora</i>	Arbusto 	Ramas 	Hojas 

Muestreo

- Naranja

El muestreo del fruto se realizó mediante el muestreo por conglomerados, se delimitaron 21 zonas de igual tamaño de aproximadamente 3 x 3 m, con 1 o 2 árboles en cada una, eligiendo al azar la zona 8 identificándola como S1 en donde se colectaron 150 frutos de 1 solo árbol y la zona 11 identificada como S2 en donde colectaron 100 frutos de 1 árbol. Finalmente se recolectaron de manera manual un único lote de 250 frutos de naranja madura. (Ver anexo N° 1)

Matial

Se realizó un muestreo al azar.

Recolección e identificación del material vegetal

- Naranja

Se realizó una visita de campo en el mes de febrero a Finca La ilusión manejada en forma convencional con una extensión de 1 manzana de terreno, ubicada geográficamente en el municipio de San Pedro Nonualco, departamento de La Paz, El Salvador.

La recolección consistió en dos etapas:

1. Se colectó una muestra representativa de la planta, la cual se colocó en medio de 6 hojas de papel periódico humedecido en alcohol etílico 70 %, luego se acomodó dentro de una bolsa plástica, dicha técnica permite preservar la muestra hasta ser identificada ya que debido a la ubicación del sitio de muestreo se entregó 48 horas después de la recolección, a la curadora del Herbario del Museo de Historia Natural de El Salvador, de esta modo que se pueda establecer reproducibilidad si se desea continuar con el estudio.
2. Se recolectó un único lote de 250 naranjas maduras por el muestreo antes mencionado para realizar el estudio.

Matial

Se realizó una visita de campo en el mes de septiembre de 2019, a Cantón La Laguna, Lago de Coatepeque, Municipio El Congo (latitud 13°53'39.88"N; longitud 89°32'45.64"W), Departamento de Santa Ana.(Ver anexo N°1)

La muestra fue identificada por Dr. Marvin Nuñez y Licda Jenny Menjivar en Julio de 2016 (J.Menjívar & Marvin J. Nuñez 4204), se recolecto de varios arbustos que forman parte de una cerca viva, se colecto un aproximado de 3 kg de ramas frescas de manera manual con ayuda de una tijera de podar.

Ambas muestras se trasladaron al Laboratorio de Investigación en Productos Naturales donde fueron lavadas con agua y a continuación se realizó su respectivo tratamiento previo.

4.4 PARTE EXPERIMENTAL.

Los esquemas representativos de cada procedimiento se detallan en los Anexos.

4.4.1 Tratamiento del Material vegetal: Naranja agria (*Citrus aurantium*)

Preparación previa (ver Anexo N° 2)

1. Lavar 50 frutos con agua potable retirando el polvo existente con ayuda de esponja.
2. Retirar el flavedo y albedo (cáscara) con ayuda de una navaja afilada haciendo cortes superficiales en el fruto.
Cortar el flavedo y albedo en trozos pequeños de aproximadamente 1 cm x 1 cm.
3. Colocar el material vegetal sobre bandejas metálicas.
4. Secar en estufa Thermo Scientific modelo Heratherm OMH400 a 60°C.
5. Moler el material vegetal en el Molino Thomas Wiley Laboratory modelo 4, malla de 2 mm.
6. Pesar el material vegetal molido.
7. Guardar el material vegetal en un contenedor de plástico con papel absorbente y rotular.

4.4.2 EXTRACCIÓN DE PECTINA

Método: Hidrólisis ácida

Procedimiento (ver Anexo N°3)

1. Colocar 2 litros de agua destilada en un beaker, rotulado como Beaker N°1

2. Añadir ácido clorhídrico al Beaker N°1 hasta obtener un pH de 1.3.
3. Calentar el contenido del Beaker N°1 hasta alcanzar una temperatura entre 80-90 °C.
4. Añadir 100 g de material vegetal molido.
5. Agitar durante 20 minutos evitando que la temperatura sobrepase 90°C.
6. Dejar en reposo hasta que el contenido del Beaker N°1 alcance la temperatura ambiente.
7. Colocar en baño ultrasónico durante 25 minutos.
8. Con ayuda de una centrifugadora separar el sobrenadante a 10 RPM por 5 minutos.
9. Agregar al sobrenadante alcohol 90° en una proporción 1:0.6.
10. Agitar por 20 minutos.
11. Dejar la solución en reposo 2 horas.
12. Filtrar en embudo metálico la pectina obtenida haciendo dos lavados con 10 mL de alcohol 90°.
13. Colocar la pectina húmeda en un vidrio de reloj.
14. Secar en estufa a 40°C durante 24 horas.
15. Moler en molino para café la pectina seca.
16. Calcular el porcentaje de rendimiento.

4.4.3 PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD PARA PECTINA SEGÚN USP

30 (26)

a) Identificación cualitativa

Prueba A (Ver anexo N°4)

1. Pesar 1 g de pectina en un vaso de precipitado.
2. Añadir 9 mL de agua destilada.
3. Colocar el vaso de precipitado en baño maría con agitación constante hasta incorporación completa.
4. Dejar enfriar la solución hasta temperatura ambiente.

Indicador: La formación de un gel firme confirma la presencia de Pectina.

Prueba B (ver Anexo N°4)

1. Agregar 1 g pectina en vaso de precipitados.
2. Añadir 100 mL de agua destilada y agitar.
3. Agregar 100 mL de alcohol.

Indicador: Se formará un precipitado traslucido y gelatinoso que confirma la presencia de Pectina.

b) Identificación cuantitativa**Prueba: Determinación de grupos metoxilos** (ver Anexo N°5)

1. Colocar 5.0 g de pectina extraída en un vaso de precipitado de 250 mL.
2. Agregar en varias porciones una solución (5:100) de ácido clorhídrico concentrado y alcohol 60 %, agitando por 10 minutos.
3. Filtrar al vacío haciendo lavados con 6 porciones de 15 mL de la solución (5:100) de Ácido Clorhídrico concentrado y alcohol 60 %.
4. Lavar finalmente con 20 mL de alcohol 60 % (hasta que desaparezcan los cloruros adicionando Nitrato de plata al 1%. (Se comprueba la presencia de cloruros con la aparición de un precipitado blanco).
5. Secar en estufa Thermo scientific a 105° C por 60 minutos.
6. Enfriar.
7. Pesar 250 mg de la muestra obtenida anteriormente.
8. Colocar en un Erlenmeyer de 250 mL y humedecer con 2 mL de alcohol 70 %.
9. Agregar 25 mL de agua libre de CO₂.
10. Tapar y agitar hasta disolución completa.
11. Agregar 3 gotas de fenolftaleína como indicador.

Método: Retrovaloración acido-base.

12. Titular con NaOH 0.5 N SV (valoración inicial).

13. Agregar 10.0 mL de NaOH 0.5 N VS, agitar vigorosamente.
14. Dejar reposar por 15 minutos.
15. Agregar 20.0 mL de HCl 0.5 N VS, agitar hasta que desaparezca la coloración rosada.
16. Agregar nuevamente 2 gotas de fenolftaleína.
17. Titular con NaOH 0.5 N SV hasta que la coloración rosada débil persista después de agitar fuertemente la mezcla (Valoración final).
18. Realizar por triplicado.

Nota: Cada mililitro de NaOH 0.5 N SV es equivalente a 15.52 mg de Metóxilo (OCH_3) en muestra seca según especificaciones USP 30.

Prueba: Determinación de ácido galacturónico (ver Anexo N° 5)

1. El volumen consumido en la valoración total de la determinación de grupos metóxilo (valoración inicial + valoración final).

Nota: Cada mililitro de NaOH 0.5 N SV es equivalente a 97.07mg de ácido Galacturónico ($\text{C}_{16} \text{N}_{10} \text{O}_7$) según especificaciones USP 30.

4.4.4 Análisis Químico proximal y Análisis de Calcio y Fósforo en hojas de Matial⁽²⁵⁾

Se llevó una muestra de 500 hojas frescas de Matial al laboratorio de Química Agrícola de la Facultad de Ciencia Agronómicas en donde se solicitó la realización de los siguientes análisis:

- Humedad Total
- Materia Seca
- Ceniza
- Proteína Cruda
- Extracto Etéreo (grasa)
- Fibra Cruda

- CHOS (Carbohidratos)
- Fósforo
- Calcio

De los cuales se detallan a continuación la metodología⁽²⁾ utilizada (ver Anexo N° 6):

Prueba: Determinación de humedad parcial

1. Fraccionar la muestra en pequeños trozos, y homogenizar haciendo uso de una bolsa plástica.
2. Pesar la muestra a la cual se le determinará la humedad parcial, en balanza semianalítica.
3. Colocar la muestra en la estufa de ventilación forzada durante 24 horas, previamente calentada a 70 °C.
4. Sacar la muestra de la estufa, enfriar en desecador durante 30 minutos.
5. Pesar y registrar el peso de la muestra después de secar.
6. Determinar el porcentaje de humedad mediante la ecuación 1.

Ecuación 1

$$\% \text{Humedad} = \frac{\text{Pérdida de peso (g)}}{\text{Peso de muestra (g)}} \times 100$$

-Donde:

Pérdida de peso = (Peso de muestra antes de secar) – (Peso de muestra después de secar).

Prueba: Determinación de humedad total

1. Calentar a 105 °C en una estufa de vacío una caja de aluminio durante un período de 2 horas. Enfriar en desecador durante 30 minutos y pesar en balanza analítica (anotar el peso).

2. En la caja de aluminio tarada pesar 2.5 gramos de muestra previamente homogeneizada (anotar el peso).
3. Colocar destapada la caja de aluminio con la muestra en la estufa de vacío (previamente calentada a 105 °C) durante 5 horas. Ajustar la presión del vacío a 100 mm de Hg.
4. Retirar la caja de la estufa, tapar y poner en desecador para que enfríe durante 30 minutos.
5. Pesar y registrar los pesos. Determinar el porcentaje de humedad total mediante la ecuación 2.

Ecuación 2

$$\% \text{Humedad} = \frac{\text{Pérdida de peso (g)}}{\text{Peso de muestra (g)}} \times 100$$

-Donde:

Pérdida de peso = (Peso de caja con muestra antes de secar) – (Peso de caja con muestra después de secar).

Peso de muestra = (Peso de caja con muestra – Peso de caja vacía).

Prueba: Determinación de cenizas

1. Colocar el crisol limpio bien identificado en un horno de mufla, calentar a 550 °C por una hora.
2. Sacar el crisol del horno mufla, colocar en un desecador y enfriar durante 30 minutos.
3. Pesar el crisol vacío en una balanza analítica digital, anotar el peso.
4. Pesar en una balanza analítica digital aproximadamente 5 gramos de muestra, a la que ya se le ha determinado la humedad, en el crisol de porcelana tarado.
5. Colocar el crisol en el horno de mufla y mantener a temperatura de 550 °C durante 2 horas; controlar la temperatura.

6. Retirar el crisol del horno de mufla, colocar en el desecador durante 30 minutos y pesar (anotar este peso).
7. Determinar el porcentaje de cenizas, mediante la ecuación 3.
8. Guardar la muestra de ceniza para la solubilización y determinación de minerales.

Ecuación 3

$$\% \text{ Ceniza} = \frac{\text{Peso de ceniza (g)}}{\text{Peso de muestra(g)}} \times 100$$

-Donde:

Peso de la ceniza = (Peso de crisol con cenizas) - (Peso de crisol vacío).

Peso de muestra = (Peso de crisol con muestra) - (Peso de crisol vacío).

Prueba: Determinación de Proteína Cruda (método de micro Kjeldahl)

Digestión

1. Pesar en papel filtro más o menos 0.25 g de muestra y colocarla en un tubo tecator para micro Kjeldahl de 250 mL.
2. Agregar al tubo, que contiene la muestra pesada:
 - +6.0 mL de ácido sulfúrico concentrado.
 - +3.0 g de la mezcla de catalizador (sulfato de potasio y sulfato de cobre).
3. Agitar durante 5 minutos ésta mezcla y colocar los tubos en el equipo de digestión Kjeldahl, al mismo tiempo conectar el sistema de extracción de vapores y condensación de gases. Retirar los tubos cuando la solución se torne de color azul o verde (dependiendo del indicador).

Destilación

1. Dejar enfriar los tubos y agregar aproximadamente 80mL agua destilada, esperar a que enfríen nuevamente.
2. Colocar el tubo en el equipo de destilación.

3. En un Erlenmeyer de 250 mL colocar 25 mL de la solución de ácido bórico al 4%, más indicadores (verde de bromocresol y rojo de metilo), y colocarlo en el aparato de destilación (solución de color rojo).
4. Agregar 60 mL de solución de hidróxido de sodio al 40 %.
5. Recibir el destilado en el Erlenmeyer de 250 mL el que debe estar en el aparato después de 5 minutos de trabajo del mismo (hasta que complete la destilación se observará un cambio de color del indicador de rojo a verde).
6. Deje enfriar el tubo por 10 a 15 minutos y luego retirarlo).

Titulación

1. Titular el destilado obtenido con solución de ácido clorhídrico 0.1 N hasta cambio de color del indicador que va de verde a rojo.
2. Determinar la cantidad de proteína en la muestra mediante las ecuaciones 4 y 5.

Ecuación 4

$$\% \text{Nitrogeno} = \frac{(\text{Volumen de HCl en mL}) \times \text{N de HCl} \times 0.014}{\text{Peso de muestra (g)}} \times 100$$

0.014 = Miliequivalente del nitrógeno.

Ecuación 5

$$\% \text{ proteína cruda} = \% \text{Nitrógeno} \times 6.25$$

El factor de 6.25 se aplica a la mayoría de las proteínas animales y vegetales.

Prueba: Determinación de extracto etéreo (grasa)

1. Pesar en papel filtro más o menos 2.0 gramos de muestra a la que se le ha determinado la humedad a 105 °C y colocarlos en un dedal de extracción limpio y seco. Anotar el peso como "peso seco".

2. Cubrir la muestra con un papel filtro de casi igual diámetro al interior del dedal o utilice algodón. Esto permite que el éter se distribuya de forma uniforme sobre la muestra.
3. Colocar el dedal con la muestra en el recipiente para muestras (corneta), y fijarlo bajo el condensador del equipo de extracción.
4. Lavar y secar un balón de fondo plano en estufa a 105 °C por 2 horas, enfriarlo y pesarlo.
5. Agregar 150 mL de éter al balón de fondo plano y colocarlo sobre el condensador.
6. Abrir la llave del agua que enfría el condensador.
7. Observar si hay escapes de éter después de que este comienza a ebulir y condensarse. Cuando el nivel del éter en el balón de grasa baje y suba constantemente (debido a que una porción siempre está volatilizándose y otra condensándose), el aparato puede dejarse solo y realizar observaciones periódicas. El periodo de extracción es de 8 horas.
8. Después de que la extracción se complete, bajar los condensadores y permita que el dedal drene completamente.
9. Remover las muestras y colocarlas en beaker para recoger el éter.
10. Colocar nuevamente los balones con grasa y destile el éter.
11. Remover los balones poco antes de que el éter se evapore hasta sequedad.
12. Vaciar el éter destilado en un recipiente especial para conservar el éter usado.
13. Completar la evaporación del éter que queda en los balones de grasa, dejándole sobre la mesa de trabajo por un tiempo.
14. Secar los balones con grasa en una estufa a 100 °C por 1 hora, después enfriarlos en el desecador a temperatura ambiente y pesarlos (anote el peso).

- **Determinar el porcentaje de extracto etéreo mediante la ecuación 6.**

Ecuación 6

$$\% \text{Extracto Etéreo} = \frac{\text{Peso de Extracto Etéreo}}{\text{Peso de muestra}} \times 100$$

-Donde:

Peso de muestra = (Peso papel filtro con muestra) - (Peso papel filtro vacío)

Peso de E.E. = (Peso de balón con extracto etéreo) - (Peso de balón vacío)

Prueba: Determinación de fibra cruda

1. Colocar la muestra desengrasada en un beaker de 600 mL que contenga 200 mL de solución ácido sulfúrico al 1.25 %.
2. Colocar el beaker en el aparato de digestión, dejar ebulir exactamente por 30 minutos girando el beaker cada 5 minutos para evitar que las partículas sólidas se adhieran a las paredes del recipiente.
3. Retirar el beaker del aparato de digestión al terminar los 30 minutos; filtrar a través de la tela especial puesta en el embudo y recibir las aguas del lavado en un beaker limpio.
4. Lavar el residuo que queda sobre el filtro con agua destilada hirviendo, hasta que el agua de lavado no presente reacción ácida, lo que se comprueba con el indicador anaranjado de metilo.
5. Al beaker original se le agregan 200 mL de solución de NaOH 1.25 % se lleva a ebullición.
6. Ebulir durante 30 minutos, lavar siempre con agua destilada hirviendo como en el paso anterior y comprobar ausencia de reacción alcalina agregando gotas de fenolftaleína, hasta que no de coloración rosa.
7. Pasar el residuo cuantitativamente a un Crisol gooch con malla sinterizada, y colocarlo en el frasco Kitasato.
8. Agregar 15 mL de etanol y filtrar aplicando vacío.

9. Secar el crisol y su contenido en una estufa a una temperatura de 130 °C durante 2 horas, poner en un desecador para enfriar y pesar en balanza analítica digital.
10. Calcinar el residuo a 600 °C durante 30 minutos, poner en desecador, enfriar y pesar.
11. La pérdida de peso es considerada como Fibra cruda y se determina mediante la ecuación 7.

Ecuación 7

$$\% \text{Fibra Cruda} = \frac{\text{Pérdida de peso después de calcinada a } 600^{\circ}\text{C}}{\text{Peso de muestra (g)}} \times 100$$

Prueba: Determinación de carbohidratos solubles

Esta fracción es calculada con base en las otras determinaciones:

Ecuación 8

$\% \text{ CHOS} = 100\% - (\% \text{Cenizas} + \% \text{Nitrógeno} + \% \text{Extracto etéreo} + \% \text{Fibra cruda})$.

Procedimientos para la determinación de minerales: Calcio y fósforo₍₂₎ (ver Anexo N°7).

Prueba: Determinación de calcio

Equipo: Fotómetro de llama M-410 Sherwood Scientific

Preparación del blanco

1. Agregar en un balón volumétrico de 100.0 mL, 5.0 mL de ácido clorhídrico concentrado y 6.0 mL de solución de lantano (50 g/L), llevar a volumen con agua bidestilada y homogenizar.

2. Colocar esta solución en el equipo de Absorción Atómica y leer. El valor obtenido será utilizado para la corrección del valor en la medición de la muestra. Preparación de soluciones Estándar (Ver Anexo N°7)
3. A partir de la solución madre de calcio [1000 ppm Ca] preparar una solución stock de 20.0 ppm.
4. A partir de la solución stock, hacer las diluciones necesarias para obtener soluciones estándar de 0.3, 2.0 y 6.0 ppm Ca, llevar a volumen utilizando agua bidestilada.

Muestra

5. Pipetear 25.0 mL del filtrado obtenido en la solubilización de cenizas de la muestra a un balón volumétrico de 100.0 mL, adicionar 6.0 mL de solución de Lantano (50 g/L). Llevar a volumen con agua bidestilada.
6. Colocar la muestra en equipo de Absorción Atómica y leer.
7. En caso de ser necesario, realizar diluciones adecuadas de la muestra tratada. Medición.

- Longitud de onda: 422.7 nm

- Rango de concentración de curva de calibración: 0.3 ~ 6 µg/mL

Prueba: Determinación de Fósforo (Ver anexo N°7)

Equipo: Fotómetro Spectroquam NOVA 60.

Preparación de estándares

1. Pipetear en balones volumétricos de 100 mL los volúmenes de solución concentrada de fósforo que se indican en el cuadro N° 2.
2. Agregar 4 mL de ácido sulfúrico 10 N y aforar a volumen con agua destilada.

Cuadro N° 2. Volúmenes a tomar para la preparación de estándares de fósforo

Volúmenes de solución concentrada de fósforo	Mg de fósforo/L de solución (ppm)
0	0
5	4
10	8
15	12
20	16

Preparación de muestra y estándares a realizar

1. Pipetear en un tubo de ensayo 5 mL de solución concentrada de Fósforo (80µg/mL).
2. Pipetear en otros tubos 2 mL de reactivo vanadio-molibdico. Tapar con tapón de hule y agitar inmediatamente durante 30 segundos. El color amarillo que se desarrolla es estable durante varias horas.
3. Dejar en reposo 5 minutos.
4. Transferir la muestra y los estándares a celdas del espectrofotómetro y leer a una longitud de onda de 420 nm.
5. Usar agua como referencia para calibrar el equipo (100% transmitancia).
6. Trazar una curva de calibración con las lecturas del 1% de transmitancia de las soluciones estándares de fósforo.

4.4.5 Tratamiento del Material vegetal: Matial (*Pereskia lychnidiflora*)

Preparación previa (ver Anexo N°8)

1. Cortar las ramas evitando las espinas del tallo que presenta la planta con ayuda de tijeras metálicas hasta obtener aproximadamente 2 kg.
2. Lavar la muestra con una solución de agua potable e hipoclorito de sodio al 5%.
3. Secar con papel toalla las hojas.

4. Cortar las hojas hasta obtener trozos pequeños.
5. Realizar dos pesadas de 250 g cada una para realizar cada extracto.

4.4.6 Preparación de extractos acuosos de Matial

Método: Extracción asistida por Ultrasonido

Extracto 60 minutos (Anexo N° 9)

Proporción 1:2

1. Añadir en el Erlenmeyer 0.5 L de agua preservada.
2. Pesar 250 g de material vegetal en balanza granataria.
3. Añadir el material vegetal en el Erlenmeyer conteniendo agua preservada.
4. Proceder a sonicar la mezcla anterior por 60 minutos en un baño ultrasonido VWR (Modelo 97043-988), verificando que la temperatura no sobrepase los 25° C.
5. Filtrar el extracto obtenido en colador metálico.
6. Recibir el extracto en frascos de vidrio protegidos de la luz solar.
7. Rotular.

Extracto 90 minutos (Anexo N° 9)

Seguir los pasos del 1-3 del **Extracto 60 minutos**

1. Proceder a sonicar la mezcla anterior por 90 minutos en un baño ultrasonido VWR (Modelo 97043-988), verificando que la temperatura no sobrepase los 25° C.
2. Filtrar el extracto obtenido en colador metálico.
3. Recibir el extracto en frascos de vidrio protegidos de la luz solar.
4. Rotular.

Extracto de hojas de Matial para estabilidad en tiempo real

Preparar un extracto utilizando 300 g de material vegetal utilizando como solvente agua preservada y como única variable el tiempo de extracción de 60 minutos.

1. Añadir en el Erlenmeyer, 1.0 L de agua preservada.
2. Pesar 300 g de material vegetal en balanza granataria.
3. Añadir el material vegetal en el Erlenmeyer conteniendo agua preservada.
4. Proceder a sonicar la mezcla anterior por 60 minutos en un baño ultrasonido VWR (Modelo 97043-988), verificando que la temperatura no sobrepase los 25° C.
5. Filtrar el extracto obtenido en colador metálico.
6. Recibir el extracto en frascos de vidrio protegidos de la luz solar.
7. Rotular.

4.4.7 Preparación de la solución de pectina 5% (ver Anexo N° 10)

1. Pesar 15 g de pectina extraída en balanza semi analítica.
2. Transferir la pectina a un beaker de 1.0 L.
3. Añadir 600 mL de agua destilada.
4. Calentar en hotplate hasta una temperatura máxima de 70° C.
5. Agitar con ayuda de agitador magnético hasta obtener una disolución completa.
6. Dejar enfriar la solución hasta alcanzar la temperatura ambiente.

4.4.8 Preparación de las Mezclas de Pectina y extracto acuoso de Matial.

Codificación de la mezcla

Preparar 2 mezclas utilizando una solución de pectina al 5 % y 2 extractos acuosos de Matial a una proporción 2:1, dichas mezclas se codificaron según el cuadro N° 3.

Cuadro N° 3. Preparación de las mezclas a partir de los 2 extractos 60 minutos y 90 minutos y una solución de pectina 5%

Solución de pectina	Extracto asistido por ultrasonido.	
	Tiempo 60 minutos	Tiempo 90 minutos
% de Pectina.		
5 %	M1E60	M2E90

En donde:

M: Mezcla

Número un dígito: Número correlativo

E: Extracto

Numero dos dígitos: Tiempo de extracción

Procedimiento para preparación de mezclas (Anexo N°11)

Se tomó en cuenta que para realizar la lectura de viscosidad en el viscosímetro FUNGILAB modelo ADVANCE-L se necesitan 300 mL de muestra, por lo cual se prepararan 300 mL de cada una de las mezclas propuestas.

Mezcla M1E60

1. Añadir 200 mL de Solución de pectina 5 % y 100 mL de extracto 60 minutos.
2. Agitar con ayuda de agitador de vidrio, hasta incorporación completa.
3. Rotular.

Mezcla M2E90

1. Añadir 200 mL de Solución de pectina 5 % y 100 mL de extracto 90 minutos.
2. Agitar con ayuda de agitador de vidrio, hasta incorporación completa.
3. Rotular.

Determinación del perfil reológico

Determinación de la Viscosidad (ver Anexo N°12)

1. Añadir la muestra (mezcla correspondiente) en el porta muestra de 350 mL.
2. Encender y configurar el Viscosímetro rotacional FUNGILAB modelo ADVANCE-L
3. Leer la viscosidad a 0.3, 0.6, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 10, 12, 20, 50 y 100 RPM seleccionando el spin según la consistencia de la mezcla.
4. Anotar el valor de viscosidad expresada en cP por cada una de las RPM.

4.4.10 Determinación de estabilidad de mezclas

Se realizó la prueba de estabilidad con una mezcla de pectina al 5% de concentración y extracto acuoso de Matial utilizando 300 g de material vegetal a una proporción 2:1.

Para la determinación de estabilidad de la viscosidad de la mezcla se tomaron lecturas diarias durante 7 días, de Temperatura y Humedad relativa, y se documentaron los siguientes factores:

- Viscosidad
- Color
- Olor
- Homogeneidad

Procesamiento de datos.

Al obtener los resultados se procedió a tabularlos en una hoja de cálculo del programa Microsoft Excel, para posteriormente graficar los resultados obtenidos. Cuando se grafica viscosidad aparente (cP) SV velocidad de rotación (RPM), se obtienen las curvas de flujo. Es necesario graficar los resultados para determinar el tipo de comportamiento reológico que presentan las mezclas, para poder determinar las características reológicas de la mezcla que podría ser utilizada como espesante en la industria alimentaria o farmacéutica.

CAPITULO V
RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.1 Recolección e identificación botánica de las especies a analizar.

5.1.1 Recolección e identificación de especies.

Tabla N°1. Resultados de la Ubicación y número de Voucher. (Ver Anexo N°13)

Nombre científico	Nombre común	Ubicación y fecha	Coordenadas	Número de Voucher
<i>Citrus aurantium</i>	Naranja agria	Cantón Santa Rita Almendro, San Pedro Nonualco, departamento de La Paz, El Salvador. 02-2019	Latitud 13°34'07.0" N; longitud 88°58'27.1" W	J. Menjívar <i>et al</i> 5142
<i>Pereskia lychnidiflora</i>	Matial	Cantón La Laguna, Lago de Coatepeque, Municipio El Congo Departamento de Santa Ana. 07-2016	Latitud 13°53'39.88"N; longitud 89°32'45.64"W	J.Menjívar & Marvin J. Nuñez 4204

Durante las visitas que se realizaron a los sitios de donde se colectaron las muestras, se realizaron con los objetivos de:

1. Reunir las muestras necesarias de los frutos de naranja, en donde de acuerdo a los muestreos por conglomerados tal como se detalló al inicio en donde se tomaron 250 naranjas para el desarrollo de la fase experimental.
2. Colectar las muestras representativas para llevar al Herbario del Museo de Historia Natural de El Salvador, donde la curadora del herbario, Licda. Jenny Menjívar realizaría la respectiva identificación botánica.

En el caso del Matial, se recolectó un aproximado de 3 kg de material vegetal para el desarrollo del trabajo y en ese caso no se llevó muestra a identificación porque ya estaba previamente asignado su número de voucher (J.Menjívar & Marvin J. Nuñez 4204).

Las precauciones en el traslado de la muestra vegetal desde su recolección hasta su almacenamiento, como protegerla de la luz solar y mantenerla a bajas temperaturas, son de suma importancia para mantenerlas en buen estado, ya que con esto se detienen los cambios bioquímicos y fisiológicos evitando ciertas reacciones enzimáticas que pueden afectar los resultados de la identificación.

En el caso de la naranjas utilizadas para nuestra investigación, en donde en la identificación se determinó que era un injerto de Naranja valencia en Naranja agria, luego de examinar la muestra por la Licda. Jenny Menjivar se determinó que pertenece específicamente a la especie *Citrus aurantium*.

5.1.2 Obtención de la pectina y cálculo de rendimiento.

Se realizó a extracción de pectina a partir del flavedo y albedo de naranja agria (*Citrus aurantium*), a los cuales se les realizaron los tratamientos previos, utilizando como método "Hidrolisis acida" y posterior precipitación con alcohol etílico 90%, obteniéndose un polvo amarillento con olor característico.

Se realizó la identificación de la pectina extraída utilizando como metodología de referencia la monografía de Pectina de la USP 30₍₂₆₎ (ver anexo N°14) específicamente la prueba A y prueba B, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla N°2. Resultados de la prueba A y prueba B para identificación de pectina cítrica.

Prueba	Especificación	Resultado
A (Pectina +agua +baño de vapor)	Gel firme al enfriarse	Cumple
B (Solución de pectina 1 % + Etanol)	Precipitado translucido y gelatinoso	Cumple

Los resultados de la Tabla N° 2 confirman que el polvo amarillento con olor característico, obtenido por el método de hidrólisis ácida es pectina. Dicha información nos permitió continuar con el resto del estudio reológico.

Cálculo de porcentaje de rendimiento de pectina a partir del flavedo y albedo de naranja

Cálculo para 150 g de material vegetal

$\% \text{ de rendimiento} = (\text{rendimiento real} / \text{rendimiento teórico}) \times 100.$

$\% \text{ de rendimiento} = (30.097 \text{ g} / 150 \text{ g}) \times 100 = 20.06 \% \text{ de material molido.}$

Mediante el método utilizado el porcentaje obtenido fue 20.06 %, al ser un porcentaje tan bajo, se tuvo que realizar la extracción múltiples veces hasta alcanzar la cantidad de pectina necesaria para realizar el análisis lo cual implicó un alto costo económico.

5.1.3 Determinación de Porcentaje de grupos Metoxilo y Ácido Galacturónico de pectina cítrica obtenida.

Para caracterizar la pectina extraída se determinó su porcentaje de grupos Metoxilo y Ácido Galacturónico, tomando como referencias las especificaciones de la monografía de Pectina, la tabla N°3 nos muestra los resultados.

Tabla N° 3. Resultados de porcentaje de grupos Metoxilo y Ácido Galacturónico.

N° de muestra	% Metoxilo	Especificación USP	% Ácido Galacturónico	Especificación USP
1	9.58	> 6.7 %	87.79	> 74.0 %
2	8.29	> 6.7 %	83.60	> 74.0 %
3	9.59	> 6.7 %	87.85	> 74.0 %

Ejemplo de cálculo:

Cálculo para determinar el porcentaje de grupos metoxilo

Volumen inicial = Volumen total gastado de NaOH 0.5 N

$$\% = \frac{\text{Volumen gastado de NaOH 0.5 N x Eq. metoxilo x 100}}{\text{Peso total de muestra}}$$

$$\% = \frac{1.55\text{mL} \times 15.52\text{mg/mL} \times 100}{251\text{mg}} = 9.58\% \text{ de grupos metoxilo}$$

Cálculo para determinar el porcentaje de ácido galacturónico

Volumen inicial + Volumen de saponificación = Volumen total gastado de NaOH 0.5 N

$$\% = \frac{\text{Volumen total gastado de NaOH 0.5 N x Eq. Ácido Galacturónico x 100}}{\text{Peso total de muestra}}$$

$$\% = \frac{(1.55+0.72)\text{mL} \times 97.07\text{mg/mL} \times 100}{251\text{mg}} = 87.79\% \text{ ácido galacturónico}$$

Factor de Corrección de NaOH: 1.03

Según la monografía de referencia, la Pectina contiene no menos de 6,7 por ciento de grupos metoxilo ($-\text{OCH}_3$) y no menos de 74,0 por ciento de ácido galacturónico ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_7$), calculado con respecto a la sustancia seca, comparando dichas especificaciones con los resultados de la tabla N° 3 se observa que la pectina obtenida a partir del flavedo y albedo de Naranja (*Citrus aurantium*) cumple con lo especificado en la monografía de la USP 30. Sin embargo, la pectina fue sometida a otros procesos para eliminar los residuos contaminantes del proceso de extracción para poder ser clasificada como pectina de grado farmacéutico. De manera que para los propósitos de esta investigación no es necesario someterla a procedimientos de purificación.

Dado que el porcentaje de grupos metoxilo obtenido es menor de 50%, este tipo de pectina obtenida se clasifica como Pectina de Bajo Metoxilo indicándonos que para que ocurra una formación de gel este tipo de pectina requiere la presencia de cationes divalentes, generalmente calcio.

5.1.4 Análisis Químico proximal y Análisis de Calcio y Fósforo en hojas de Matial. (Ver Anexo N°15)

El análisis químico proximal y análisis de calcio y fósforo de una muestra de 500 g de hojas frescas fue solicitada la realización de los análisis anteriormente descritos en el Laboratorio de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas. Los resultados se muestran en la tabla N°4.(ver anexo N°15 y N°16)

Tabla N° 4. Resultados del Análisis bromatológico y minerales: Calcio y Fosforo realizado en Hojas de Matial (Resultados presentados en Base Seca). (Ver Anexo N°15)

Tipo de análisis	Método	Resultados*	Unidades (g/g)
Humedad total	Gravimétrico	98.41	%
Materia Seca		1.59	%
Ceniza		15.84	%
Proteína Cruda	Micro-Kjeldahl	14.02	%
Fibra Cruda	----	5.88	%
CHOS (Carbohidratos)	Diferencia	61.97	%
Minerales	Método	Resultados*	Unidades
Fosforo	UV	4.04	Ppm
Calcio	Fotometría de llama	27,283.56	Ppm

*Resultados en materia seca.

Humedad y Materia Seca

Según el resultado del análisis realizado a las Hojas de Matial se obtuvo un 98.41% de Humedad y 1.59% de Materia Seca, lo que demuestra que en las hojas la mayor parte de su composición es agua; esto debido a que el Matial pertenece a la familia de las Cactaceas y estas tienen la característica inusual de retención de agua que consiguen, y para ello cuentan con un complejo mecanismo interno conocido como CAM, el cual permite mantener cerrados los estomas durante el día, evitando la absorción del dióxido de carbono y la

pérdida de líquido, permitiéndoles tener una importante reserva de agua para procesar los nutrientes solo durante la noche.

Ceniza

Según la tabla N°4 los resultados de ceniza obtenidos fueron de 15.84%, la cantidad de cenizas representa el contenido total de minerales en los alimentos, este valor puede ser por el alto contenido de calcio que presenta la muestra o de algún compuesto inorgánico que pueda estar presente.

Proteína cruda

La determinación de proteína cruda se hizo por el método de Kjeldahl obteniéndose un 14.02% el cual con respecto al aporte nutricional se observa que las hojas de Matial aportan por cada 100 g consumidos el 25.03% del aporte dietético recomendado al día ⁽⁹⁾, lo que indica que esta planta podría ser una fuente considerable de proteína cruda.

Extracto etéreo (Grasa)

La extracción de extracto etéreo se hizo mediante Soxhlet, obteniéndose un 2.30%, la ingesta adecuada ⁽⁹⁾ de extracto etéreo (grasa) es de 17 gramos al día para hombres sanos y 12 gramos para mujeres sanas, esta necesidad cubre en un 13.53% para los hombres y un 19.17% para las mujeres al consumir 100 g, pudiendo este ser un alimento que aportaría un bajo porcentaje de grasa.

Fibra cruda

Una vez realizada la determinación de fibra cruda se obtuvo un 5.88%, con respecto al aporte nutricional ⁽⁹⁾ por parte de la muestra de hojas de Matial analizadas se observa que la ingesta adecuada es de 38 g al día para el caso de un hombre adulto sano y 25 g para mujeres sanas, dando las hojas de Matial un aporte de 5.88 % de fibra cruda por cada 100 gramos, estando éste dentro del límite recomendado a ingerir diariamente.

Carbohidratos

El aporte dietético recomendado diario⁽⁹⁾ para carbohidratos en mujeres y hombres es de 130 g de carbohidratos al día. El porcentaje obtenido de carbohidratos en hojas de Matial fue de 61.97% cubriendo con un 47.67% de aporte dietético recomendado diario por cada 100g, por lo cual este podría ser un alimento que puede cubrir una parte considerable de los requerimientos diarios de este nutriente.

Minerales

Calcio

El calcio es un constituyente principal en los huesos y dientes y también desempeña un papel esencial como segundo mensajero en las vías de señalización celular, por lo cual lo vuelve un nutriente esencial en la alimentación de las personas las cuales necesitan una ingesta adecuada diaria de 1,000 mg (Ver anexo N° 17). Las hojas de Matial presentan un alto contenido de calcio, obteniéndose un 27,283.56 mg el cual sobrepasa el límite máximo recomendado.

Fósforo

El aporte dietético recomendado diario de fósforo es de 700mg/ día (ver anexo n° 17), el resultado obtenido fue de 4.04 mg siendo este un valor más bajo del recomendado.

5.1.5 Perfil reológico de los Extractos acuosos de Matial preparados por ultrasonido a 60 y 90 minutos.

Para la obtención de los extractos acuosos de Matial, se utilizó el método de ultrasonido, debido a que es más conveniente ya que es una alternativa más económica, simple y eficiente. Los datos de viscosidad del perfil reológico fueron obtenidos en el viscosímetro "FUNGILAB ADVANCE-L", acoplado con el brazo protector y los rotores de disco L (L63 y L64) según la consistencia de la

mezcla, las lecturas fueron registradas como Viscosidad relativa en centipoise (cP) versus velocidad de rotación (RPM).

Un punto crítico fue realizar las lecturas a una Temperatura promedio de 13.2 °C, lo cual se logró con ayuda de un baño de hielo, ya que las condiciones ambientales como la temperatura influyen sobre la viscosidad relativa, puesto que mide la facilidad que tiene la mezcla para fluir ante la aplicación de un esfuerzo cortante en determinadas condiciones, por lo tanto, no depende de las características del fluido sino de la temperatura y variará según las misma. De modo que se logró establecer mejor estabilidad en las lecturas del mucilago a la temperatura indicada anteriormente.

Tabla N°5. Resultados del Perfil de Viscosidad de los Extractos acuosos de hojas de *Pereskia lychnidiflora* a 60 minutos y 90 minutos por extracción asistida por ultrasonido.

Velocidad de rotación	Extracto 60 minutos	Extracto 90 minutos
(RPM)	Viscosidad (cP)	Viscosidad (cP)
0.3	3252	3256
0.5	1156	1025
1	455.5	457.8
1.5	439.5	445
2	337.2	211.2
2.5	315.1	249.8
3	272.6	192
4	154.4	113.5
5	99	95.27
6	84.76	85.87
10	48.61	54.59
12	42.87	36.21
20	31.8	30.34
50	14.7	14.95
100	11.9	12.9

En los resultados se observa como los extractos acuosos de hojas de *Pereskia lychnidiflora* obtenidos por extracción asistida por ultrasonido a 60 y 90 minutos, presentan una disminución de su viscosidad aparente al aumentar la velocidad de rotación (RPM) (ver Tabla N°5). También se observó que las viscosidades de ambos extractos son similares lo cual indica que el tiempo no influyó en la extracción del mucilago de las hojas, ya que al saturarse el solvente del extracto no se logra solubilizar más mucilago.

Se comprueba el comportamiento reológico graficando la Viscosidad aparente versus Velocidad de rotación de los datos de ambos extractos (ver Figura N°9) a fin de verificar si es de tipo No Newtoniano.

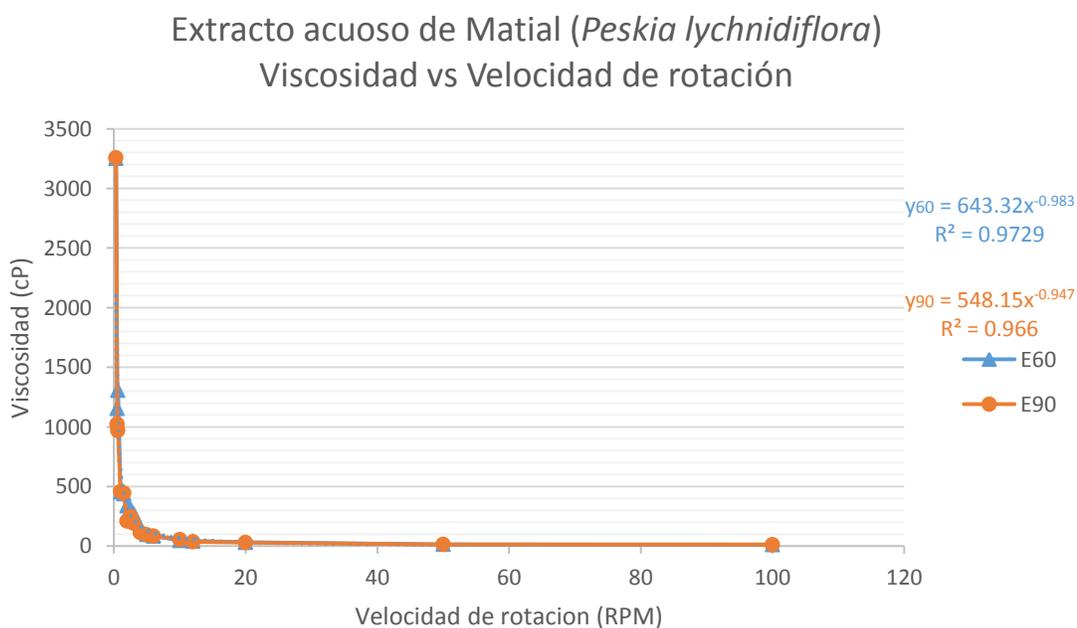


Figura N°9 Viscosidad aparente versus Velocidad de rotación de los Extractos acuosos de hojas de *Pereskia lychnidiflora* a 60 minutos y 90 minutos por extracción asistida en ultrasonido.

Analizando el gráfico se observa como ambos extractos presentan tendencia no lineal. Este comportamiento es común en los fluidos No Newtonianos de tipo

Pseudoplásticos, en donde estos poseen una disminución no lineal de la viscosidad a medida que aumenta la Velocidad de rotación, la cual es una representación de la Velocidad de Cizalla para este estudio.

A partir de los datos de la tabla N° 5 se determinó la ecuación de la gráfica de cada uno de los extractos acuosos 60 minutos y 90 minutos. En la Figura N°9 se puede constatar que ambos extractos siguen una ecuación potencial del tipo $\eta = KR^n$, en donde η es la Viscosidad Aparente, R es la Velocidad de Rotación, n es el Factor de Sensitividad de Cizallamiento, y K es el Multiplicador de Consistencia (Índice de Consistencia). Esta ecuación es características de los fluidos No Newtonianos Pseudoplásticos.

Posteriormente se convirtieron los datos de Viscosidad aparente y Velocidad de Rotación a datos de Logaritmo base 10, con el propósito de poder graficar el Log_{10} de la Viscosidad aparente versus Log_{10} de la Velocidad de rotación de los datos de ambos extractos (ver Tabla N°6). Los datos de los logaritmos se reflejan un comportamiento lineal con una ecuación de tipo $y' = mx' + b$. La ecuación obtenida es la linealización de la ecuación potencial del tipo $y = Kx^n$, donde y' es el Logaritmo de y , x' es el Logaritmo de x , m de la ecuación lineal es n en la ecuación de potencia, y b de la ecuación lineal es el Logaritmo de K de la ecuación de potencia.

Tabla N°6. Logaritmo (Log_{10}) de los resultados del Perfil de Viscosidad de los Extractos acuosos de hojas de *Pereskia lychnidiflora* a 60 minutos y 90 minutos por extracción asistida por ultrasonido.

Log de la Velocidad de rotación	60 minutos	90 minutos
<i>Log10 RPM</i>	Log10 viscosidad	Log10 viscosidad
-0.52287875	3.51215054	3.5126844
-0.30103	3.06295783	3.01072387
-0.22184875	3.11594318	2.98748751
0	2.65848838	2.66067579
0.17609126	2.64295888	2.64836001

Tabla N° 6. Continuación

0.30103	2.52788757	2.32469391
0.47712125	2.43552585	2.28330123
0.60205999	2.1886473	2.05499586
0.69897	1.99563519	1.97895617
0.77815125	1.92819095	1.93384146
1	1.68672562	1.73711309
1.07918125	1.63215348	1.55882852
1.30103	1.50242712	1.48201558
1.69897	1.16731733	1.17464119
2	1.07554696	1.11058971

El valor de la pendiente en las ecuaciones lineales (Factor de Sensitividad de Cizallamiento), $-0.983\text{Log}_{10}(R)$ para Extracto 60 minutos y el valor $-0.9473\text{Log}_{10}(R)$ para Extracto 90 minutos, lo cual indica que para ambos extractos la disminución de la viscosidad es similar al aplicar la misma Velocidad de Rotación (Ver figura N°10).

El Extracto 60 minutos presenta mejores características para su uso en la industria ya que sus viscosidades tienen un mejor ajuste comparado al extracto 90 minutos. Posiblemente debido al tiempo de sonicado en donde los enlaces del polisacárido pudieron romperse a mayor el tiempo en el equipo.

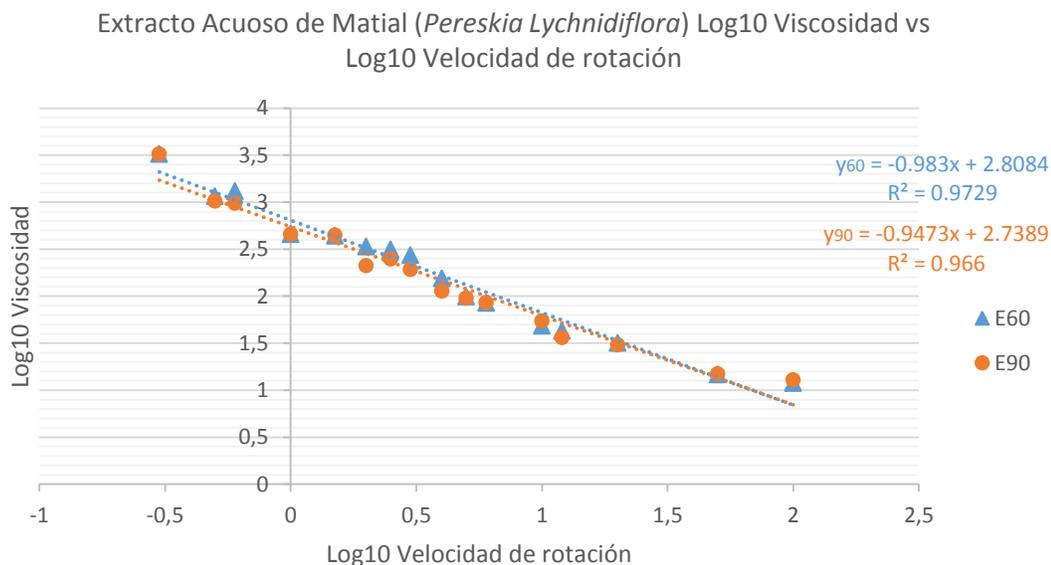


Figura N°10. Log₁₀ Viscosidad aparente versus Log₁₀ Velocidad de rotación de los Extractos acuosos de hojas de *Pereskia lychnidiflora* a 60 minutos y 90 minutos por extracción asistida en ultrasonido.

Perfil reológico de Pectina cítrica extraída

Los datos obtenidos de la viscosidad de pectina (ver tabla N°7) presentan un comportamiento no lineal y fueron graficados a fin de comprobar su comportamiento No newtoniano y de tipo pseudoplástico.

Tabla N°7. Resultados de la viscosidad de una solución de pectina al 5%

RPM	VISCOSIDAD (CP)
0.3	17500
0.5	14350
0.6	13240
1	10950
1.5	9985
2.5	8845
3	8700
4	8665
5	8420
6	8230
10	8005
12	7850

Tabla N°7. Continuación

20	7315
50	6170
100	5330

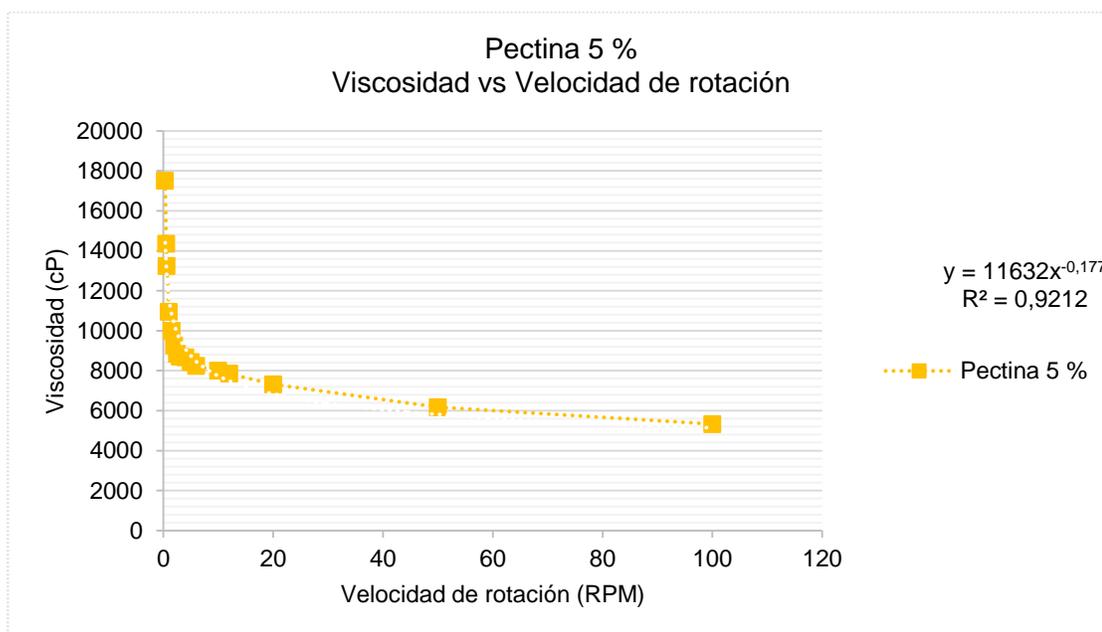


Figura N°11. Viscosidad aparente versus Velocidad de rotación de Pectina 5 %.

PERFIL REOLÓGICO DE MEZCLAS DE LOS EXTRACTOS DE MATIAL 60 MINUTOS Y 90 MINUTOS Y PECTINA CÍTRICA.

Con la finalidad de investigar el comportamiento reológico que presenta una mezcla de proporción 2:1 de pectina cítrica y extracto acuoso de *Pereskia lychnidiflora*. Se determinaron las viscosidades para dos mezclas correspondientes a los Extractos acuosos 60 y 90 minutos, con una solución de pectina al 5 %.

Los resultados de las mezclas presentan una disminución de su viscosidad aparente al aumentar la velocidad de rotación (RPM) (ver Tabla N°8).

Tabla N° 8. Resultados del Perfil de Viscosidad de las mezclas.

Velocidad de rotación	M1E60	M2E90
(RPM)	Viscosidad (cP)	Viscosidad (cP)
0.3	10050	16300
0.5	7130	6520
0.6	6845	5395
1	6170	4243
1.5	4401	3269
2	3674	3734
2.5	3432	3161
3	3040	2813
4	2540	2525
5	2417	2344
6	2220	2192
10	1967	1779
12	1864	1728
20	1759	1663
50	1577	1478
100	1443	1344

Con el objetivo de determinar el comportamiento reológico que presentan las mezclas (M1E60 y M2E90), se graficó la Viscosidad aparente versus Velocidad de rotación de los datos de las mezclas (ver Figura N°12) y vemos como su tendencia muestra un comportamiento No Newtoniano de tipo pseudoplástico. Se observa como en ambas mezclas hay disminución no lineal al aumentar la Velocidad de rotación. Estas evidencias señalan además como la pectina genera una influencia en los extractos acuosos de *Pereskia lychnidiflora* aumentando la viscosidad de estos.

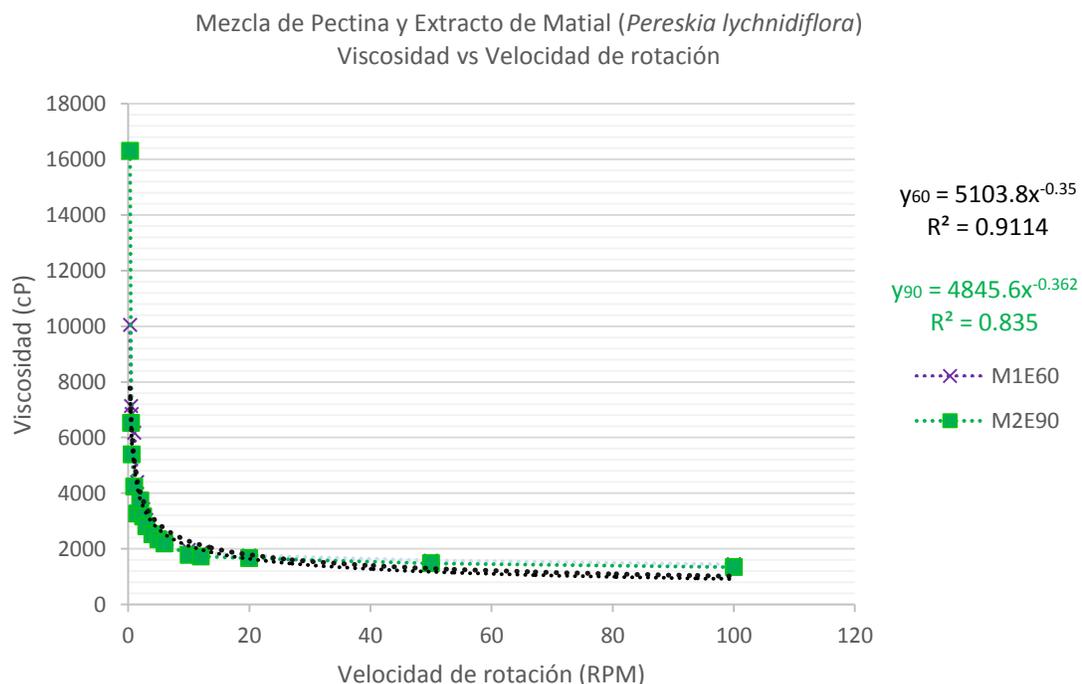


Figura N°12. Viscosidad aparente versus Velocidad de rotación de las mezclas M1E60 y M2E90

Según la Figura N°12 la mezcla presentó una ecuación potencial del tipo $\eta = KR^n$, dicha ecuación corresponde a los fluidos No Newtonianos Pseudoplásticos.

Para linealizar la ecuación se calculó por medio del programa ofimático Microsoft Excel el logaritmo base 10 de los datos de la tabla N° 9, obteniendo la ecuación del tipo $y' = mx' + b$, lo cual corresponde a los fluidos No Newtonianos de tipo Pseudoplásticos.

Tabla N°9. Logaritmo base 10 de los datos de las mezclas.

Velocidad de rotación	M1E60	M2E90
Log10	Log10 viscosidad	Log10 viscosidad
-0.52287875	4.00216606	4.2121876
-0.30103	3.85308953	3.8142476
-0.22184875	3.83537345	3.73199145

Tabla N° 9. Continuación

0	3.79028516	3.62767303
0.17609126	3.64355137	3.51441492
0.30103	3.56513915	3.57217431
0.39794001	3.53554728	3.4998245
0.47712125	3.48287358	3.44916973
0.60205999	3.40483372	3.40226138
0.69897	3.38327665	3.36995761
0.77815125	3.34635297	3.34084055
1	3.29380436	3.25017595
1.07918125	3.27044591	3.23754374
1.30103	3.24526584	3.22089225
1.69897	3.19783169	3.16967443
2	3.15926633	3.12839927

En las mezclas M1E60 y M2E90 (ver Figura N°13) el valor de la pendiente en las ecuaciones lineales (Factor de Sensitividad de Cizallamiento), $-0.3505(R)$ para M1E60 y el valor $-0.3618\text{Log}_{10}(R)$ para M1E90 el R^2 se aproxima más a 1, por lo tanto esta mezcla presenta menor variación en los datos, de modo que esta presenta mejores características para su futuro uso como espesante.

Además, se observa que la disminución de la viscosidad es similar al aplicar la misma Velocidad de Rotación. Esto señala matemáticamente que las mezclas con extractos a 60 minutos de ultrasonido presentan mejor estabilidad y linealidad que el extracto a 90 minutos, aun así, ambos fluidifican fácilmente de una manera similar.

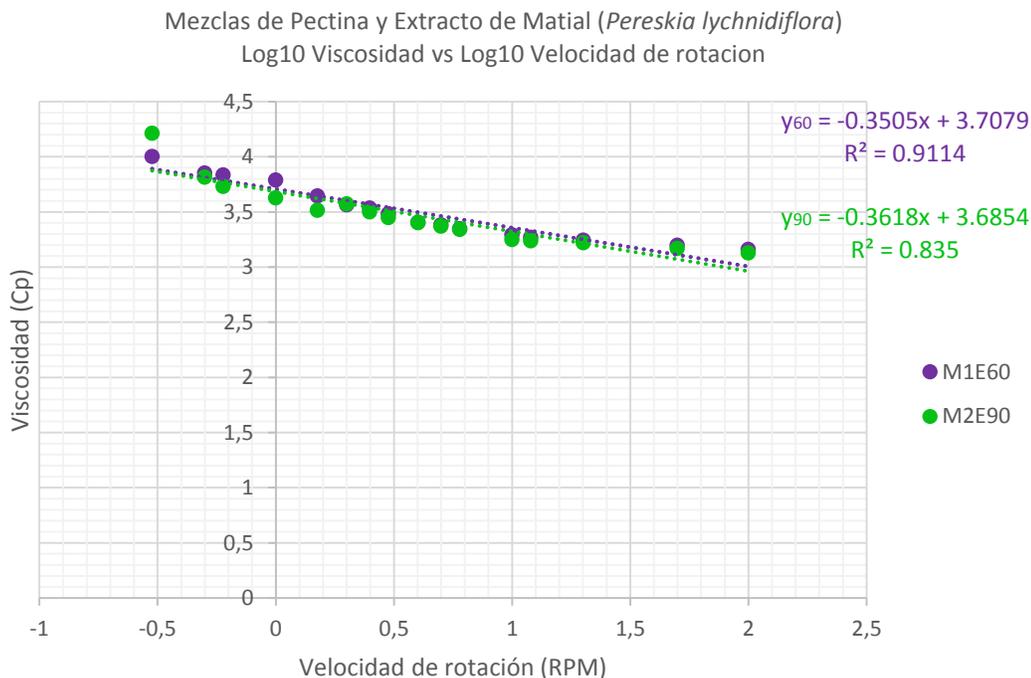


Figura N°13. Log₁₀ Viscosidad aparente versus Log₁₀ Velocidad de rotación de las mezclas M1E60 y M2E90

5.1.6 Estabilidad a tiempo real

La mezcla preparada con pectina al 5% de concentración y extracto acuoso de matial preparado con 300 g de hojas en 1 L de agua preservada, mediante el método de Ultrasonido a 60 minutos a una proporción 2:1, se mantuvo en reposo durante 7 días, protegida de la luz. Se realizó un control diario de temperatura y humedad relativa obteniéndose una temperatura promedio de 25.6 °C y una Humedad Relativa promedio de 46.9 %.

Los resultados se presentan en la Tabla N°10. Luego de 7 días no se evidencian cambios organolépticos en la mezcla posiblemente debido a los preservantes añadidos al agua.

Tabla N°10. Resultados de las características organolépticas y físicas de la Mezcla de pectina 5 % y extracto acuoso de Matial para estabilidad.

Factor	Mezcla		Observaciones
	Día 1	Día 7	
Viscosidad a 100 RPM	140.2	276.3	Aumento de viscosidad
Color	Café claro	Café claro	Sin cambios
Olor	Característico	Característico	Sin cambios
Homogeneidad	De aspecto Homogéneo	De aspecto Homogéneo	Sin cambios

Los resultados del perfil de viscosidad obtenido de la mezcla de estabilidad se tomaron a una temperatura promedio de 27.5 °C. Se observa un aumento de la viscosidad en los datos del Día 7. (Ver Tabla N°11)

Tabla N°11. Resultados de la viscosidad de mezcla de estabilidad.

	DIA 1	DIA 7
RPM	Viscosidad	
0.5	378	595
1	210	399.9
2	162	377.9
2.5	158.4	359.9
4	156	311.9
10	152.4	293.9
20	150.6	290.3
50	144	281.9
100	140.2	276.3

Se graficó la Viscosidad aparente versus Velocidad de rotación de los datos de la mezcla (ver Figura N°14) y vemos como la tendencia muestra un comportamiento No Newtoniano de tipo pseudoplástico. Se observa como ambas mezclas presentan una disminución no lineal al aumentar la Velocidad de rotación.

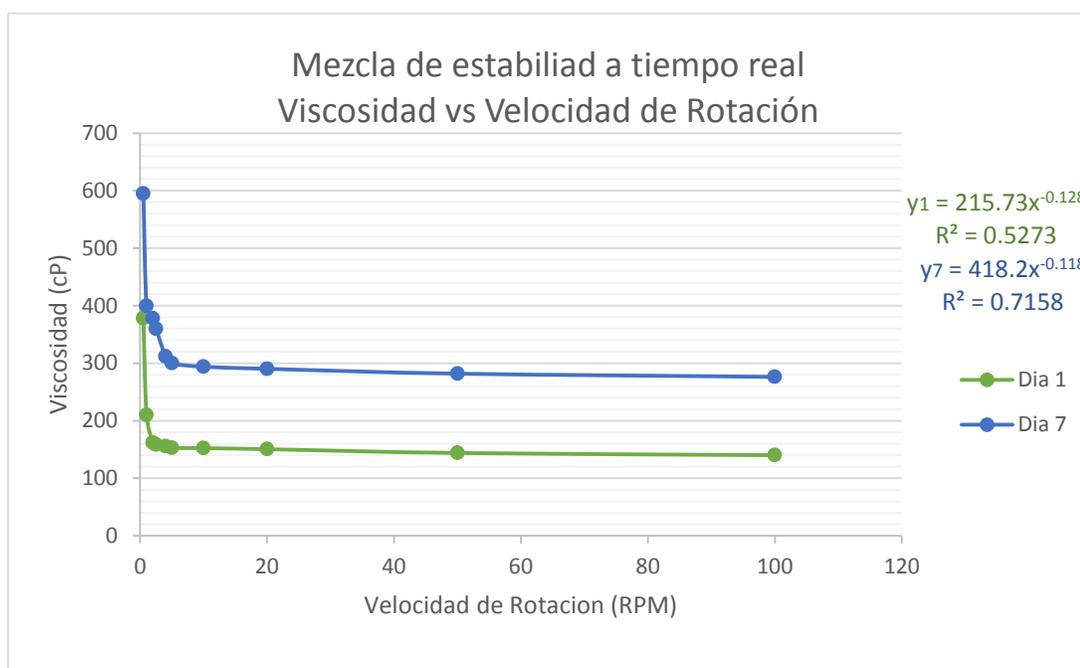


Figura N°14. Viscosidad versus Velocidad de rotación de la mezcla de estabilidad de 1 día y 7 días.

Se evidencio un claro aumento de la viscosidad en la mezcla el Día 7 comparado al Día 1, en donde la viscosidad fue más baja. Esto demuestra que al estar la mezcla en reposo la pectina absorbe más agua debido a su propiedad de absorción aumentando así la viscosidad de la mezcla en donde el Matial según los resultados no tiene influencia sobre esta propiedad. También se observa que fluidifican de manera similar al aplicar un esfuerzo. Por lo tanto, existe la probabilidad de que continúe aumentando la viscosidad. Sin embargo, la pectina tiene un límite de adsorción de agua por lo cual solo realizando un

nuevo estudio de esto podríamos establecer la viscosidad máxima que puede alcanzar la mezcla.

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. Con la metodología propuesta para la extracción de pectina cítrica a partir de albedo y flavedo de naranja se obtuvo un rendimiento de 20.06 %, dando un porcentaje de ácido galacturónico del 87.79 % y 9.58 % de grupos metoxilo superando el valor mínimo especificado en la USP de 6.70 % y 74%. Para tener calidad farmacéutica y obteniéndose una pectina de bajo metoxilo (un valor inferior al 50%).
2. El mucilago de Matial no tiene propiedades que le permitan aumentar e influir sobre la viscosidad de la mezcla, lo que significa que no presenta las propiedades necesarias para ser utilizado como espesante o coadyuvante de otros como la pectina.
3. Las mezclas de pectina presentan un comportamiento reológico No Newtoniano del tipo pseudoplástico, en donde la viscosidad aparente disminuye al aumentar la velocidad de rotación.
4. El tiempo de extracción no es un factor que influya en el aumento de viscosidad, pudiéndose solo trabajar con extracto acuoso de matial sonificado por 60 minutos, ahorrándose tiempo y energía.
5. El tiempo de extracción no es un factor que influya en el aumento de viscosidad, pudiéndose solo trabajar con extracto acuoso de matial sonificado por 60 minutos, ahorrándose tiempo y energía.
6. La viscosidad de las mezclas aumenta al aumentar el tiempo de reposo de ellas debido a la propiedad de la pectina de adsorción de agua.

7. Al comparar los resultados de la mezcla en reposo del día 1 al día 7, es evidente que en el último día del ensayo se alcanza una viscosidad mayor, en donde dichos resultados están asociados a la pectina y no al extracto de Matial.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

1. Durante la investigación se observó que existe muy poca información sobre el Matial (*Pereskia lychinidiflora*), por lo tanto, es de interés realizar un estudio bromatológico completo de la planta en otros periodos de tiempo para estudiar así su comportamiento a lo largo de un año.
2. El costo es elevado al querer utilizar el mucilago de Matial como ingrediente para el enriquecimiento de los productos alimenticios.
3. La adición de Mucilago de Matial a una solución de pectina al 5 % no favoreció su viscosidad por lo cual, no es factible su utilización como coadyuvante para favorecer la viscosidad en la mezcla.
4. Los costos de extracción de pectina son elevados y los rendimientos bajos, además el Matial actualmente no se encuentra ampliamente distribuido en el país, por lo cual se vuelve difícil realizar los muestreos de la planta. Además, es importante considerar que las viscosidades alcanzadas no son de utilidad comparadas a otros espesantes disponibles en el mercado como por ejemplo, gomas y celulosas.
5. En futuras investigaciones cuando se utilice cáscaras de naranja utilizar diferentes tamaños esto es de suma importancia debido a que se comprobó la dificultad a la hora de realizar la extracción, ya que de esta manera se evita el centrifugado durante el procedimiento.

BIBLIOGRAFIA

1. Aditivos Químicos - Espesantes (2019, Octubre), [Online] Disponible: <https://aditivosquimicos.es.tl/Espesantes.htm>
2. Asociación de Química Analítica Oficial (AOAC). (1970) Químicos analíticos oficiales- 11ª Ed. Washington DC. Publicado por la Asociación de Químicos Oficiales.
3. Cerén López, J., Menjívar Cruz, J., Arias Montes, Á. (2015). *Diversidad de cactus de El Salvador*. San Salvador, p.112-114.
4. Chasquibol-Silva, N., Arroyo-Benites, E., & Morales-Gomero, J. C. (2017). Extracción y caracterización de pectinas obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana. *Ingeniería Industrial*, 0(026), 175. <https://doi.org/10.26439/ing.ind2008.n026.640>
5. CodexAlimentarius FAO-WHO (2019, Octubre), [Online] Disponible: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/es/>
6. Escobar, M. B. (2010). *Extracción de compuestos fenólicos de las cáscaras de cítricos producidos en México*. Instituto Politecnico Nacional.
7. Esquivel, Patricia. (2004). Los frutos de las cactáceas y su potencial como materia prima. *Agronomía Mesoamericana*, 15(2), 215–219. Costa Rica
8. Evaluación y determinación de vida de anaquel – Synergy-Biotech (2019, Octubre), [Online] Disponible: <https://www.synergy-biotech.com/evaluacion-y-determinacion-de-vida-de-anaquel.php>

9. García Gabarra, A. Ingesta de nutrientes: Conceptos y recomendaciones internacionales (2º parte). *Nutrición Hospitalaria*, 2006, vol.21, nº4, Pág. 437-447
10. Gilabert, J. P. i. (1999). Degradación enzimática y características físicas y químicas de la pectina del bagazo de melocotón. Tesis Doctoral. Universidad de Lleida, España. <https://doi.org/84-688-3807-1>
11. Glosario de Botánica (2019, Octubre), [Online] Disponible: <https://www.arbolesornamentales.es/glosario.htm>
12. Guerra, R., Gómez, L. J., Castillo, U. G., Toloza, G., Sánchez-Pérez, J. P., Avalos, N., ... Moreno Mendoza, M. A. (2018). Analgesic effect, phytochemical characterization and toxicological analysis of ethanolic extract of pereskia lychnidiflora leaves. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 35(4), 581–589. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.354.3532>
13. Hall Ramírez, V., Rocha Palma, M., & Rodríguez Vega, E. (2002). Plantas medicinales Volumen I. *Centro Nacional de Información de Medicamentos*, 2, 130.
14. Jordi pagan; G. " Degradación enzimático y características físicas y químicas de la pectina del bagazo de melocotón ISBN: 89-89727-64-3 Depósito legal ,S 54-98. Server de publicaciones. Universidad de Lleida
15. L. G., Gomez Estrada, H., Diaz Castillo, F., R. G. I. (2012). "Farmacopea Vegetal Caribeña." In *Fewtet*.

16. Lord Britton, N., Nelson, J.(2015) *The Cactaceae, Descriptions and Illustrations of Plants of the Cactus Family. (Vol. 2).*Estados Unidos. Palala Press.
17. Lozano, C., Cordoba, D., & Cordoba, M. (2012). *Manual de Tecnología Farmacéutica* (Primera Ed; Fotoletra S.A., Ed.). España: Elsevier España, S.A.
18. Mendoza-vargas, L., Jiménez-forero, J., & Ramírez-niño, M. (2017). *Evaluation of pectin extracted enzymatically from cocoa (Theobroma cacao L.) POD HUSKS. 20(1), 131–138.* Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v20n1/v20n1a15.pdf>
19. Mucílago o mucilago – Enciclonet.com (2019, Octubre), [Online] Disponible: <http://www.enciclonet.com/articulo/mucilago/>
20. Nacional, A., & Sanitaria, D. V. (2005). *Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos.(Vol. 2). Brasil, Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria*
21. Novoa, M. A. O., Palacios, C. A. M., & León, E. R. de. (1993). *Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos.* Retrieved from <http://www.fao.org/3/AB489S/AB489S00.htm#TOC>
22. Polisacárido – EcuRed (2019, Octubre), [Online] Disponible: <https://www.ecured.cu/Polisac%C3%A1rido#:~:text=Polisac%C3%A1ridos.,de%20m%C3%A1s%20de%20diez%20monosac%C3%A1ridos.>

23. Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo *in vitro* (2019, Octubre), [Online] Disponible:
<https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/255/837>
24. Propiedades Funcionales de Polisacáridos y proteínas (2019, Octubre), [Online] Disponible:
<http://lem1polisacaridosyproteinas.blogspot.com/2014/>
25. Rivera, Edwin; Pineda Jacob (2016). Determinación del análisis bromatológico proximal y minerales en pupusas a base de *Zea mays* (maíz), comercializadas dentro y en los alrededores del campus central de la universidad de el salvador. (Tesis de grado). UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR, San Salvador, El Salvador.
26. The United States Pharmacopeial Convention Inc. 2008. Farmacopea de los Estados Unidos de America treinteava revision .Estados Unidos de America
27. Tze Hong, N., & Hayati Ibrahim, N. (2012). Extraction and characterization of mucilage from leaves of *Pereskia bleo* (ROSE CACTUS). *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 23(2), 210–216.
<https://doi.org/10.6066/jtip.2012.23.2.210>
28. Velasquez, H. (2006). *Reología de fluidos y su aplicación en el area de los alimentos*. [en línea], Medellin. Universidad nacional de Colombia. Disponible:
<http://bdigital.unal.edu.co/57124/1/hectorjosecirovelasquez.2006.pdf> (Mendoza-vargas, Jiménez-forero, & Ramírez-niño, 2017)

29. Viscosímetro - EcuRed (2019, Octubre), [Online] Disponible:
<https://www.ecured.cu/Viscos%C3%ADmetro>

GLOSARIO

Agente espesante: Sustancias que, al agregarse a una mezcla, aumentan su viscosidad sin modificar sustancialmente sus otras propiedades como el sabor.⁽¹⁾

Polisacáridos: Biomoléculas formadas por la unión de una gran cantidad de monosacáridos.⁽²²⁾

Hidrocoloides: Grupo de compuestos químicos que se caracteriza por un elevado peso molecular, debido a que están constituidos por grupos de moléculas que se repiten formando polímeros.⁽²⁴⁾

Valoración de Saponificación: La saponificación es una reacción química entre un ácido graso (o un lípido saponificable, portador de residuos de ácidos grasos) y una base o álcali, en la que se obtiene como principal producto la sal de dicho ácido y de dicha base. Estos compuestos tienen la particularidad de ser anfipáticos, es decir tienen una parte polar y otra apolar (o no polar), con lo cual pueden interactuar con sustancias de propiedades dispares.⁽¹⁴⁾

Reología: Parte de la física que estudia la relación entre el esfuerzo y la deformación en los materiales que son capaces de fluir.⁽¹⁴⁾

Viscosímetro: Instrumento empleado para medir la viscosidad y algunos otros parámetros de flujo de un fluido.⁽²⁹⁾

Vida de anaquel: Periodo de tiempo en el cual el alimento conserva los atributos esperados por el consumidor y es el momento adecuado para comercializarlo.⁽⁸⁾

Mucilago: Sustancia orgánica de textura viscosa, semejante a la goma, que contienen algunos vegetales.⁽¹⁹⁾

Ácido galacturónico: El ácido D-galacturónico es un monosacárido de 6 átomos de carbono correspondiente a la forma oxidada de la D-galactosa, por lo

que también. Pertenece al grupo de los azúcares ácidos. Es el principal componente de las pectinas, donde puede encontrarse en forma de ácido poligalacturónico. Presenta un grupo aldehído en el carbono 1 y un grupo carboxilo en el carbono 6. ⁽¹⁴⁾

Pectina: Las pectinas son una mezcla de polímeros ácidos y neutros muy ramificados. Constituyen el 30% del peso seco de la pared celular primaria de Células vegetales. En presencia de aguas forman geles. Determinan la porosidad de la pared y por tanto el grado de disponibilidad de los sustratos de los enzimas implicados en las modificaciones de la misma. Las pectinas también proporcionan superficies cargadas que regulan el pH y el balance iónico." ⁽¹⁴⁾

Hidrólisis: Es un proceso mediante el cual se descompone el agua en sus elementos constituyentes hidrógeno y oxígeno, por acción de la corriente eléctrica o se rompe una molécula por la acción del agua. ⁽¹⁴⁾

Metabolitos secundarios: Compuestos químicos sintetizados por las plantas que cumplen funciones no esenciales en ellas, de forma que su ausencia no es letal para el organismo, al contrario que los metabolitos primarios. ⁽²³⁾

Ramificación monopódica: Se compone de un eje principal en cuya zona apical perdura el crecimiento vegetativo y a cuyos lados crecen ramas secundarias. ⁽¹¹⁾

Tricomas: Glándulas de resina de origen epidérmico que presentan las plantas en su superficie. ⁽¹¹⁾

Tépalos: Sépalo u hoja del cáliz que es del mismo color que los pétalos. ⁽¹¹⁾

Antesis: Periodo de florescencia o floración de las plantas con flores. ⁽¹¹⁾

Codex Alimentarius: Colección de normas, códigos de práctica, directrices y otras recomendaciones internacionalmente reconocidas relacionadas con los alimentos, la producción de alimentos y la inocuidad de los alimentos. ⁽⁵⁾

Protopectina: Término utilizado para describir las sustancias pépticas insolubles en agua encontradas en los tejidos vegetales y de las cuales se forman las sustancias pépticas solubles. ⁽¹⁴⁾

Categoría REC: Recomendación de uso de parte de la planta, avalado por una o varias de las siguientes instancias: el empleo significativo tradicional documentado en las encuestas TRAMIL, la información científica publicada, los estudios de toxicidad y/o validación farmacológica. ⁽¹⁵⁾

ANEXOS

ANEXO N°1

Sitios de muestreo de material vegetal utilizado



Figura N° 15. Delimitación de la zona según el muestreo por conglomerados para la naranja. (S: Sitio)

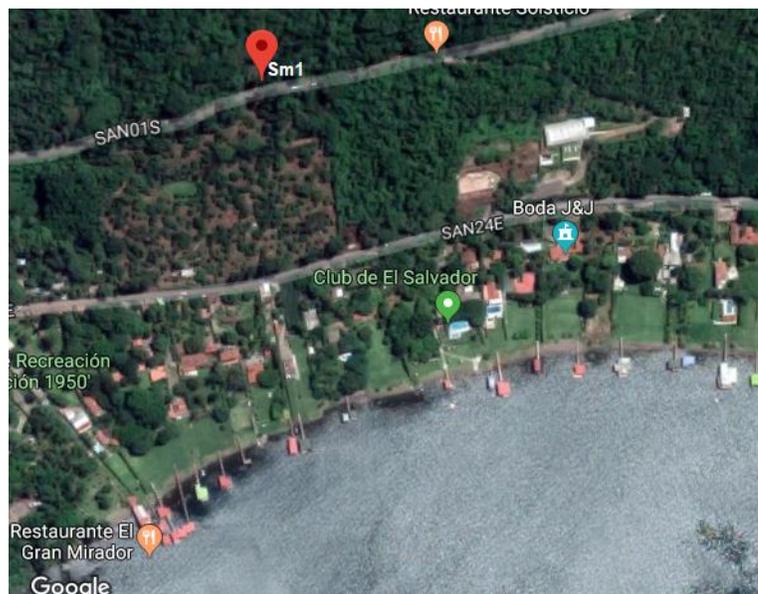


Figura N° 16. Ubicación del sitio de muestreo de ramas de Matial. (Sm1= Sitio de Muestreo 1)

ANEXO N° 2

Toma y tratamiento de muestra (Naranja)



Toma de muestra (250 Naranja agria)



Lavar las Naranjas con agua potable



Retirar cáscara con ayuda de una navaja haciendo cortes superficiales en el fruto



Secar en estufa Thermo Scientific modelo Heratherm OMH400 a 60°C



Moler el material vegetal en el Molino Thomas Wiley Laboratory modelo 4, malla de 2 mm

Figura N°17 Toma y tratamiento de muestra (Naranja)

ANEXO N°3

Extracción de pectina (hidrólisis ácida)

Procedimiento (hidrólisis ácida)

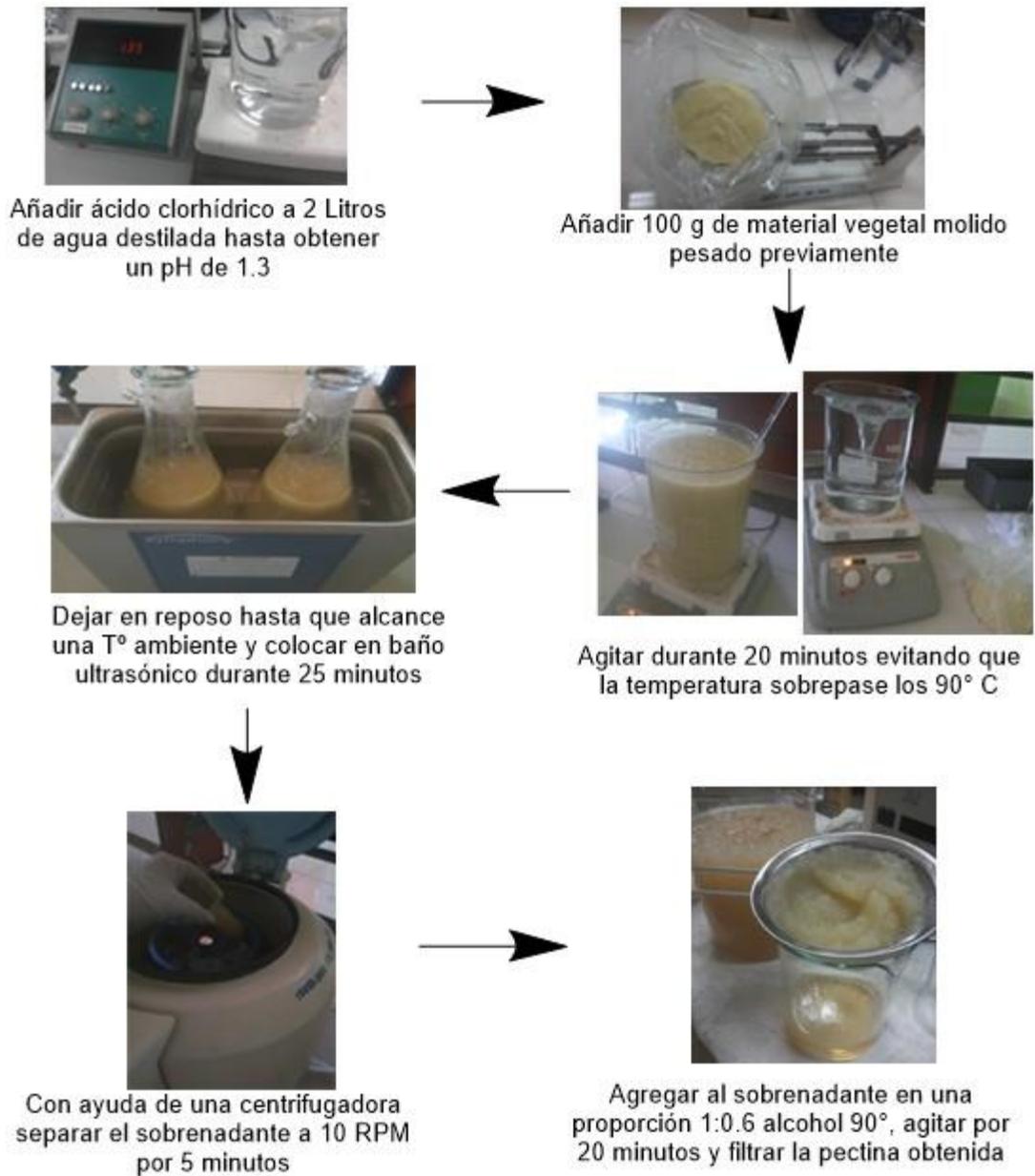


Figura N°18 Procedimiento de extracción de pectina de naranja (hidrólisis ácida)



Figura N°19 Continuación procedimiento de extracción de pectina de naranja (hidrólisis ácida)

ANEXO N°4

Identificación de pectina

PRUEBA A



Pesar 1 g de pectina



Añadir 9 mL de agua y
colocar en un baño de vapor



Se obtiene un gel firme al
enfriarse

Figura N°20 Procedimiento para identificación de pectina (Prueba A)

PRUEBA B



Preparar una solución de pectina 1:100



Agregar la misma cantidad de alcohol



Se forma un precipitado traslucido gelatinoso

Figura N°21 Procedimiento para identificación de pectina (Prueba B)

ANEXO N°5

Determinación de grupos metoxilos y ácido galacturónico

Procedimiento Caracterización de pectina



Figura N° 22 Procedimiento para la determinación de grupos metoxilos y ácido Galacturónico



Figura N°23 Procedimiento para la determinación de grupos metoxilos y ácido Galacturónico (Continuación)

ANEXO N° 6

Procedimientos del análisis químico proximal (Humedad total, materia seca, ceniza, proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda) ⁽²⁵⁾

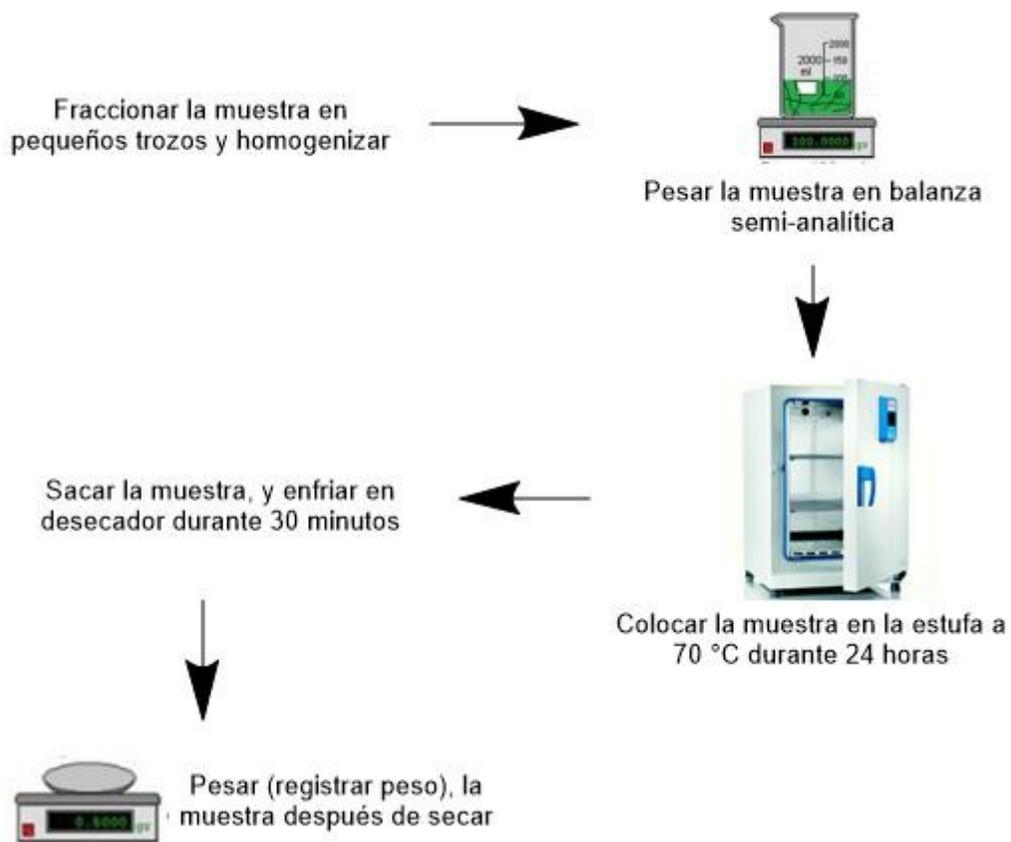


Figura N°24 Procedimiento para la determinación de humedad parcial



Figura N°25 Procedimiento para la determinación de humedad total



Colocar el crisol limpio e identificado en una mufla a 550 °C durante 1 hora



Retirar el crisol de la mufla y colocarlo en desecador durante 30 minutos



Pesar el crisol vacío en balanza analítica, anotar el peso



Colocar el crisol con muestra en la mufla a 550 °C durante 2 horas



Retirar el crisol de la mufla, colocarlo en desecador durante 30 minutos



Pesar el crisol en balanza analítica, registrar peso

Figura N°26 Procedimiento para la determinación de cenizas

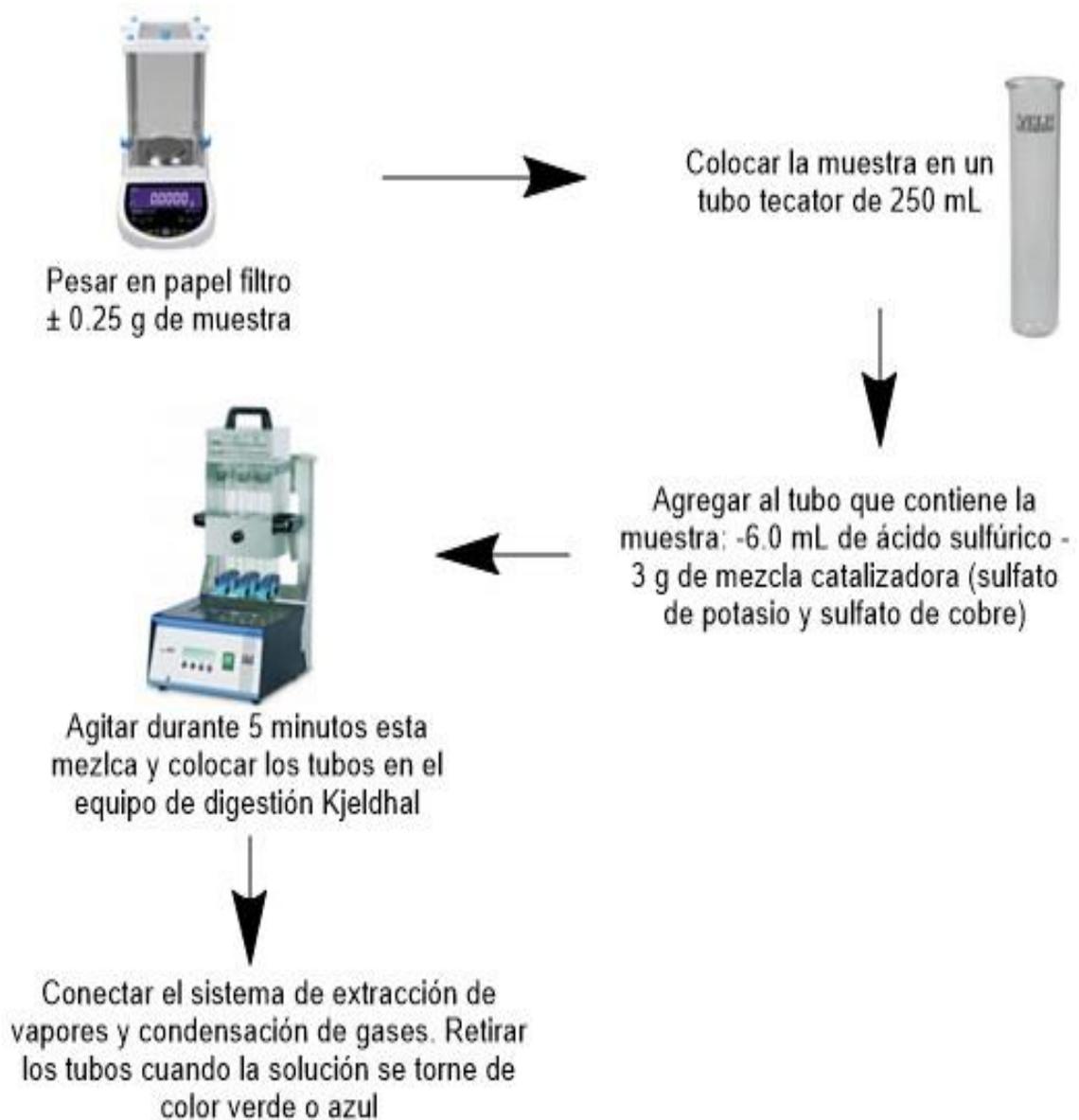


Figura N°27 Procedimiento para la determinación de nitrógeno proteico, etapa de Digestión.



Figura N°28 Procedimiento para la determinación de nitrógeno proteico, etapa de Destilación.



Titular el destilado obtenido con
solución de ácido clorhídrico
0.1N hasta cambio de color del
indicador que va de verde a rojo



Figura N°29 Procedimiento para la determinación de nitrógeno proteico, etapa de Titulación



Figura N°30 Procedimiento para la determinación de extracto etéreo.

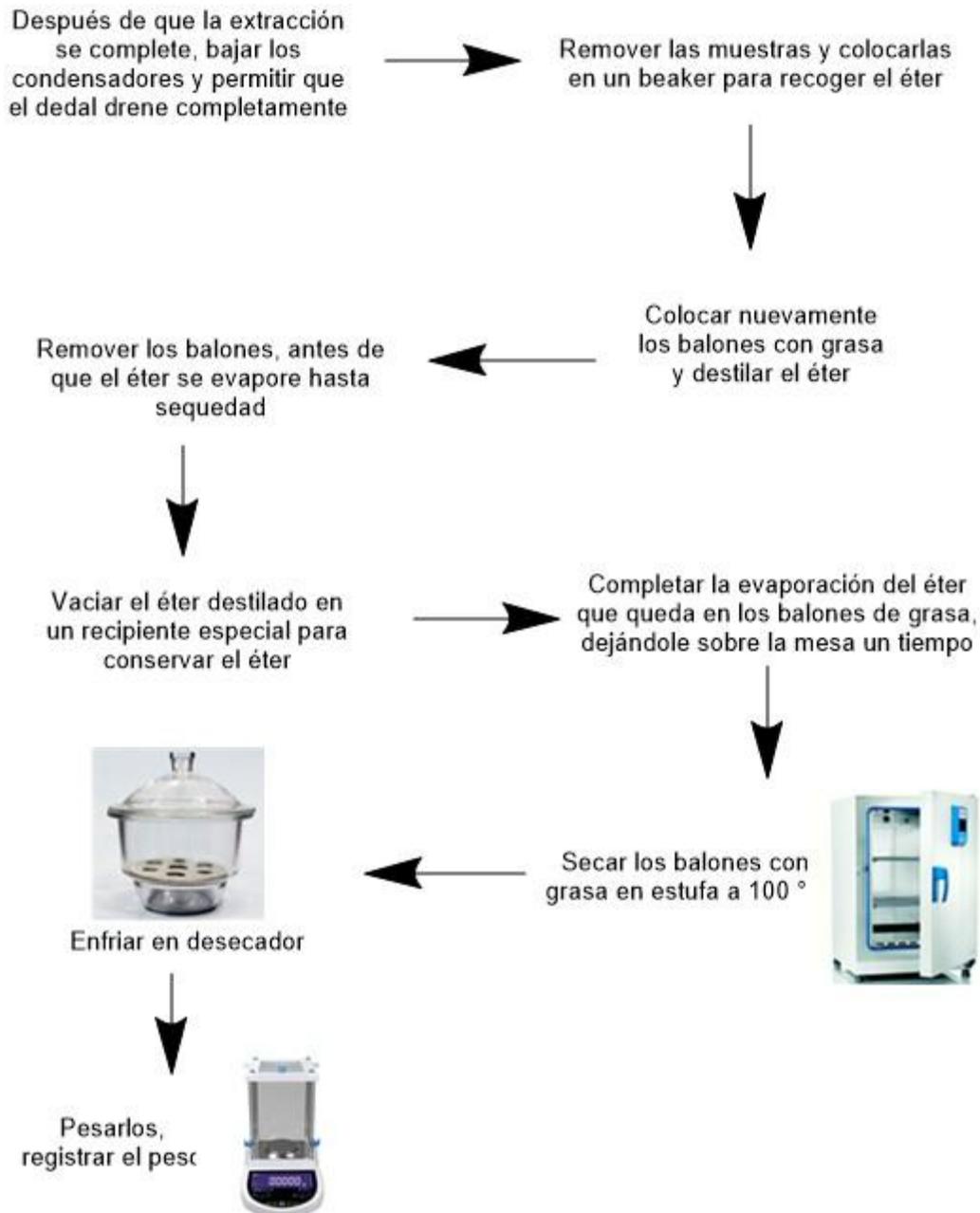


Figura N°31 Procedimiento para la determinación de extracto etéreo. (Continuación)

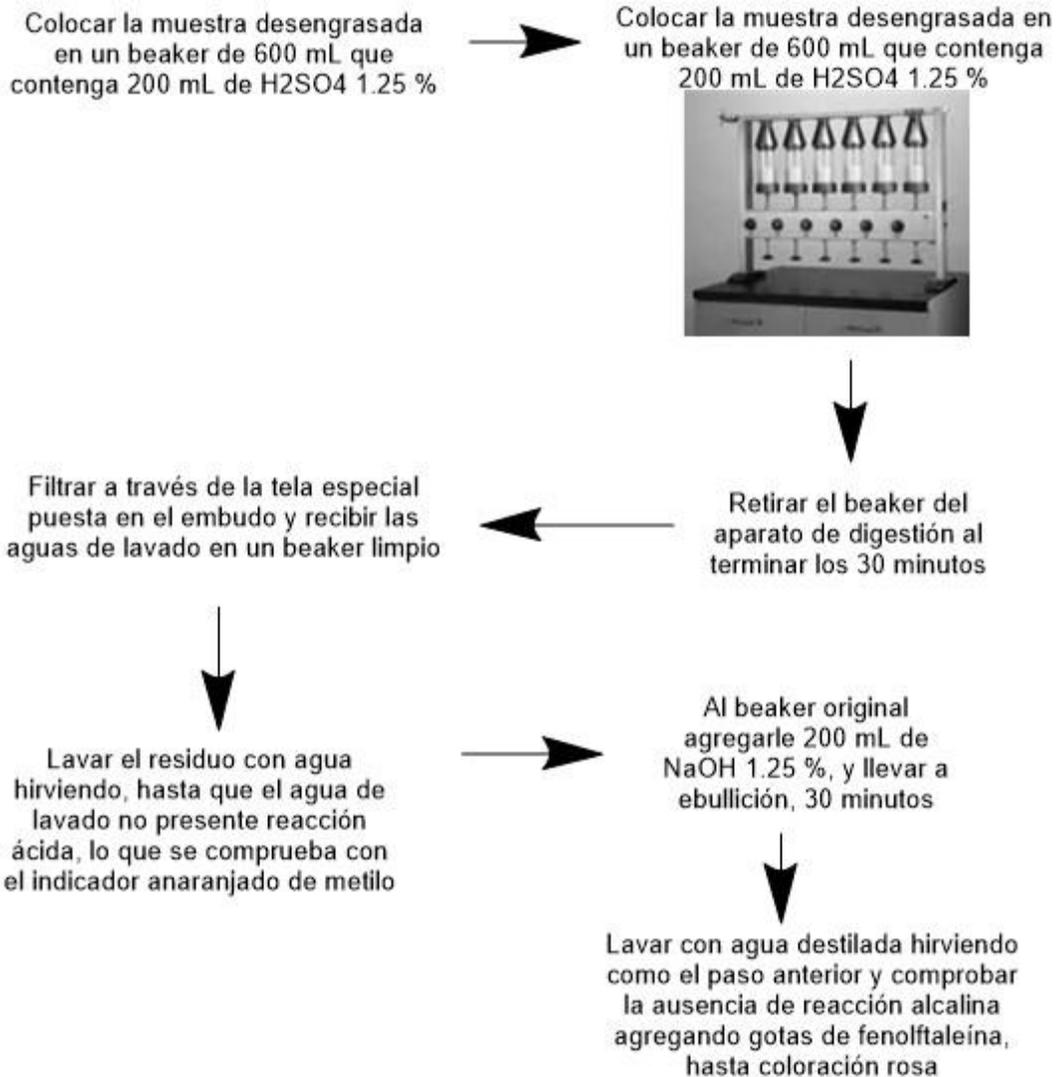


Figura N°32 Procedimiento para la determinación de fibra cruda

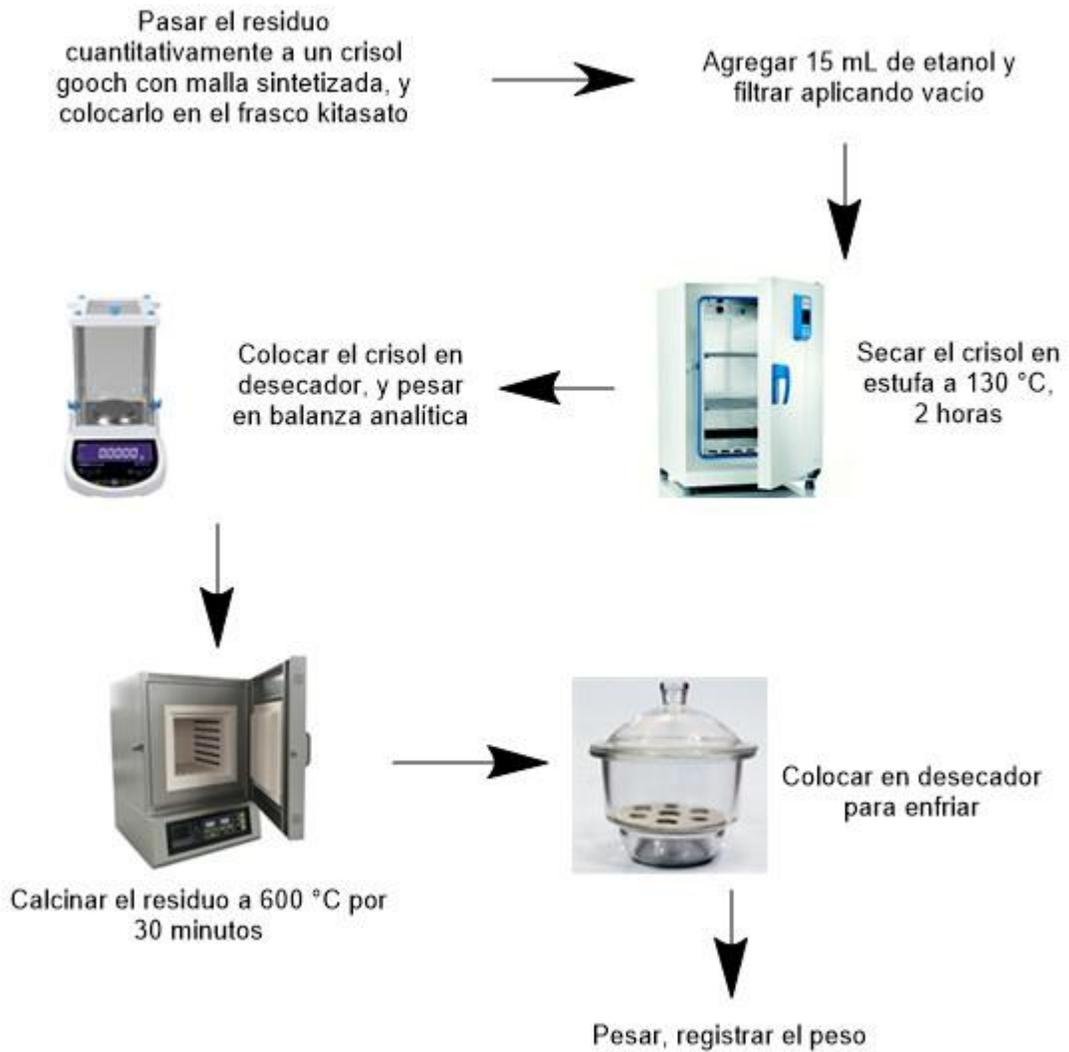


Figura N°33 Procedimiento para la determinación de fibra cruda. (Continuación)

ANEXO N° 7

Procedimientos para la determinación de minerales (fósforo y calcio)

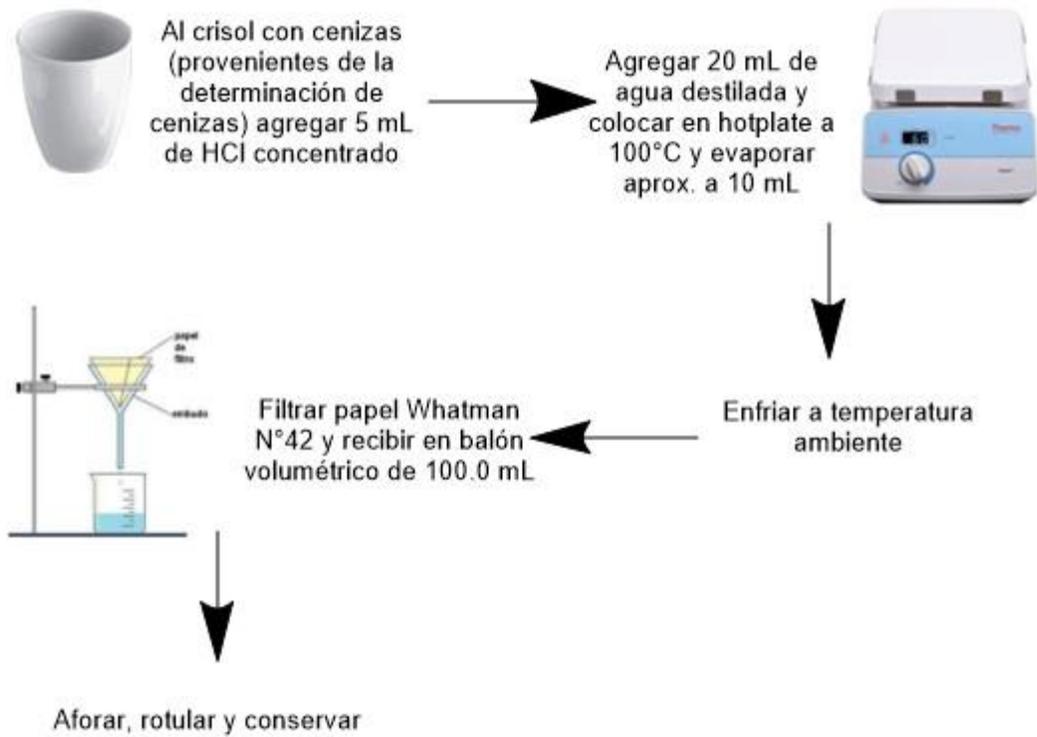
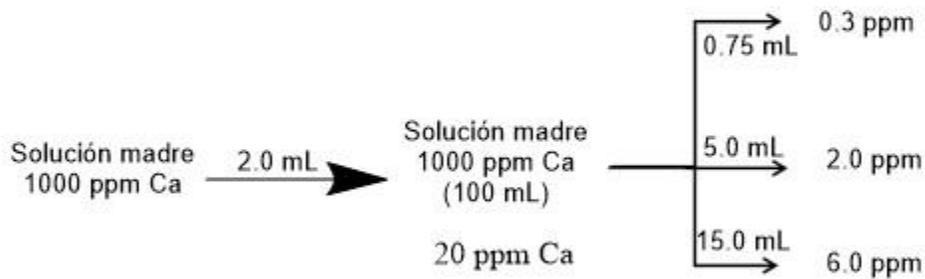


Figura N°34 Esquema preparación de solución madre para determinación de minerales.

Preparación del blanco para la determinación de Calcio



Preparación de soluciones estándar (Para preparar 50.0 mL de cada estándar)



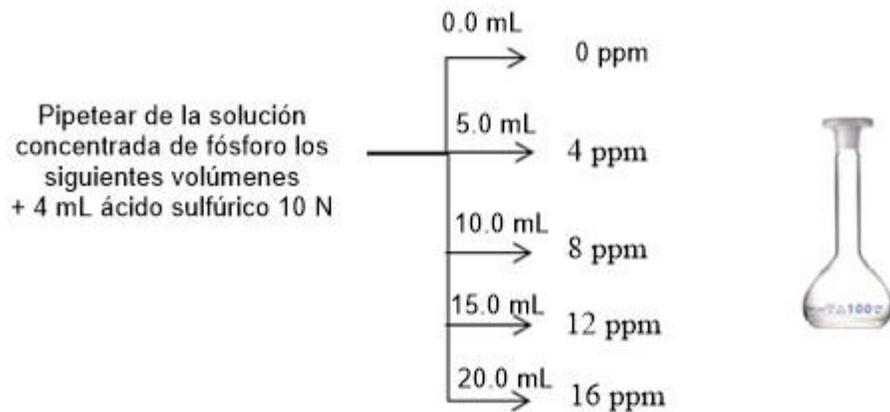
* Aforar con agua bidestilada

Muestra



Figura N°35 Procedimiento para determinación de Calcio

Preparación de estándares de fósforo



Preparación de muestra y estándares a realizar

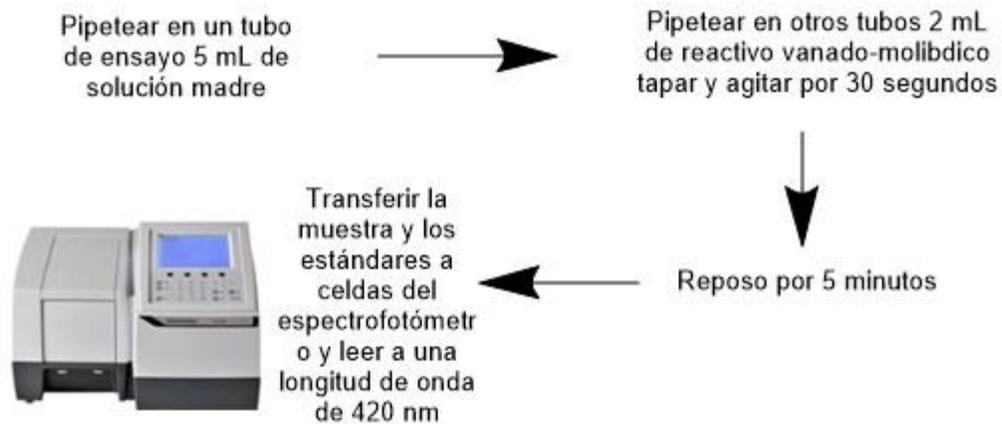


Figura N°36 Procedimiento para la determinación de fósforo

ANEXO N°8

Matial (*Pereskia lychnidiflora*)

Preparación del material vegetal

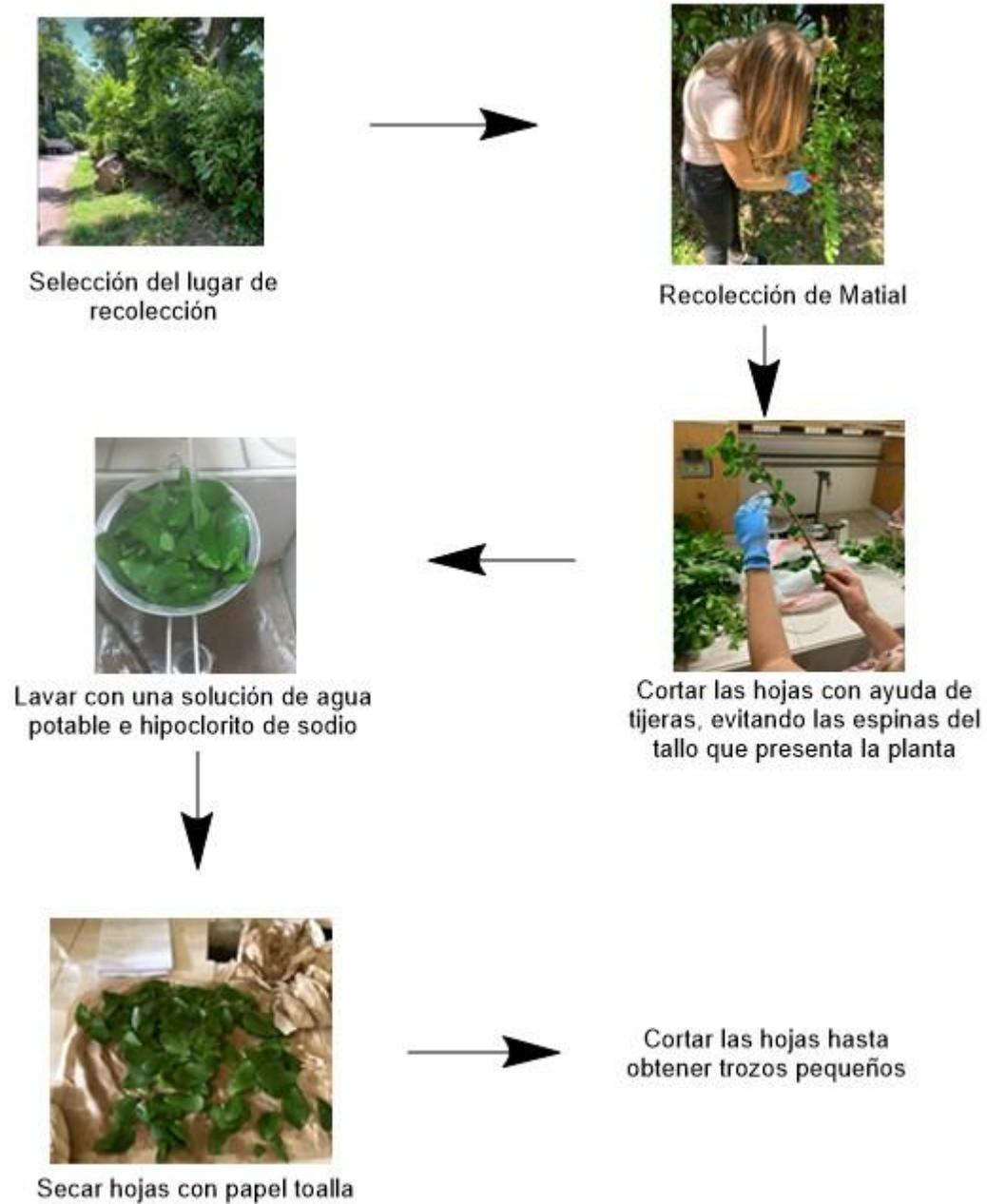


Figura N°37 Preparación de material vegetal (Matial)

ANEXO N° 9

Extracción asistida por ultrasonido



Agregar 500 g de hojas molidas
en 1 L de agua preservada



Colocarlo en el sonicador y programar
por 60 y 90 minutos respectivamente



Luego de transcurrido el
tiempo correspondiente filtrar



Figura N°38 Procedimiento para la extracción asistida por ultrasonido de 60 y 90 minutos (Matial)

ANEXO N°10

Solución de pectina al 5%



Pesar 15 g de pectina



Calentar 600 mL de agua y añadir la pectina; agitar hasta disolución completa

Figura N°39 Procedimiento para la preparación de la solución de pectina al 5%

ANEXO N° 11

Preparación de mezclas (Mezcla M1E60 y Mezcla M2E90)

(Proporción 2:1): Agregar 200 mL de solución de pectina al 5% y 100 mL de extracto E60.



Repetir el procedimiento para mezcla M2E90 utilizando el extracto E90 y solución de pectina 5%



Figura N°40 Procedimiento para la preparación de mezclas

ANEXO N° 12

Determinación de la Viscosidad

Encender el viscosímetro y colocar la muestra para realizar la medición de viscosidad



Leer la viscosidad a 0.3, 0.6, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 10, 12, 20, 50 y 100 RPM seleccionando el spin según la consistencia de la mezcla

Anotar el valor de viscosidad expresada en cP por cada una de las RPM.

Figura N°41 Procedimiento para la toma de viscosidad

ANEXO N° 13

Identificación de material vegetal *Citrus aurantium*


GOBIERNO DE
EL SALVADOR

MINISTERIO
DE CULTURA

Ingeniero Sergio Armando Maravilla
Jefe Químico y Profesor Universitario III
Presente

Por este medio hago constar que la muestra recolectada en la Finca la Ilusión, Cantón Santa Rita Almendro, Municipio Santiago Nonualco, Departamento La Paz, en fecha 16 de febrero de 2019, por Claudia Grande Coreas y Juana Cecilia Romero Hernández, con características de Árbol de 3mt. Frutos maduros, en la cual se incluye la nota: Injerto de Naranja valencia en naranja agria. Con dicha información y al examinar la muestra se determina que pertenece a la especie *Citrus aurantium* L. de la familia Rutaceae, la cuál será depositada en la colección nacional del herbario MHES del Museo de Historia Natural de El Salvador, bajo el número de Voucher J. Menjívar *et al* 5142.

Para los usos que estime conveniente se extiende la presente constancia de identificación de muestra botánica a los 14 días de octubre del año 2019.


F. _____
Licda. Jenny Menjivar
Curadora Herbario MHES
Coordinadora Colecciones de Historia Natural MUHNES.



Dirección General de Patrimonio Cultura y natural - Dirección de Museos - Museo de Historia Natural de El Salvador
Teléfonos (503) 2270 9228, 2270 1387; muhnes@cultura.gob.sv
www.cultura.gob.sv

Figura N° 42 Carta de notificación de resultados de la identificación de naranja.

ANEXO N° 14

MONOGRAFIA DE PECTINA USP 30 ⁽²⁶⁾

Pectina

Pectina [9000-69-5].» La Pectina es un carbohidrato purificado que se obtiene a partir del extracto ácido diluido de la porción interna de la cáscara de los frutos cítricos o de la pulpa de la manzana. Contiene principalmente ácidos poligalacturónicos parcialmente metoxilados.

La Pectina contiene no menos de 6,7 por ciento de grupos metoxilo ($-\text{OCH}_3$) y no menos de 74,0 por ciento de ácido galacturónico ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_7$), calculado con respecto a la sustancia seca.

NOTA — La pectina comercial para la producción de productos alimenticios gelatinosos se normaliza por conveniencia a “grado 150 de gelatinización” mediante la adición de dextrosa u otros azúcares y algunas veces contiene citrato de sodio u otras sales amortiguadoras.

Esta monografía hace referencia a la pectina pura a la que no se le han agregado tales productos.

Envasado y almacenamiento — Conservar en envases impermeables.

Etiquetado — Etiquetar indicando si proviene de manzana o de cítricos.

Identificación —

A: Calentar 1 g con 9 mL de agua en un baño de vapor, reponiendo el agua perdida en la evaporación, hasta que se forme una solución que se forma un gel firme al enfriarse.

B: A una solución (1 en 100), agregar el mismo volumen de alcohol: se forma un precipitado translúcido y gelatinoso (diferenciación de la mayoría de las gomas).

C: A 5 mL de una solución (1 en 100) agregar 1 mL de hidróxido de sodio 2N y dejar reposar a temperatura ambiente durante 15 minutos: se forma un gel o semigel (diferenciación de la goma tragacanto).

D: Acidificar el gel de la prueba anterior con ácido clorhídrico 3N y agitar: se forma un precipitado voluminoso, incoloro y gelatinoso que al hervirlo se torna blanco y floculento (ácido pectínico).

Límites microbianos <61> Cumple con los requisitos de la prueba para la ausencia de *Salmonella* spp.

Perdida por secado <731> Secar a 105°C durante 3 horas: no pierde más de 10,0% de su peso.

Arsénico, Método II <211>: 3 ppm.

Plomo—Agregar 2,0 g de Pectina a 20 mL de ácido nítrico en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, mezclar y calentar el contenido cuidadosamente hasta que se disuelva la Pectina. Continuar el calentamiento hasta que el volumen se reduzca hasta aproximadamente 7 mL. Enfriar rápidamente hasta temperatura ambiente, transferir a un matraz volumétrico de 100 mL y diluir a volumen con agua. Una porción de 50,0 mL de esta solución no contiene más de 5 mg de plomo (correspondiente a no más de 0,0005% de Pb) cuando se prueba conforme a la prueba de límite de Plomo, utilizando 15 mL de solución de citrato de amonio, 3 mL de solución de cianuro de potasio y 500 mL de solución de clorhidrato de hidroxilamina. Después de las primeras extracciones con ditizona, lavar las capas de cloroformo combinadas con 5 mL de agua, desechar la capa de agua y continuar de la manera habitual extrayendo con 20 mL de ácido nítrico diluido (1 en 100).

Azúcares y ácidos orgánicos—Colocar 1 g en un matraz de 500 mL, humedecer con 3 a 5 mL de alcohol, verter rápidamente 100 mL de agua, agitar y dejar en reposo hasta su completa disolución. Agregar a esta solución 100 mL de alcohol que contenga 0,3 mL de ácido clorhídrico, mezclar y filtrar rápidamente. Medir 25 mL del filtrado en una cápsula tarada, evaporar el líquido en un baño de vapor y secar el residuo en un horno de vacío a 50° durante 2 horas: el peso del residuo no es mayor de 20 mg. *Impurezas orgánicas volátiles, Método IV <467>*: cumple con los requisitos. (Oficial hasta el 18 de julio de 2007)

Valoración de grupos metoxilo—Transferir 5,00 g de Pectina a un vaso de precipitados adecuado y agitar durante 10 minutos con una mezcla de 5 mL de ácido clorhídrico y 100 mL de alcohol al 60 por ciento. Transferir a un filtro de vidrio sinterizado (crisol de 30 a 60mL o tipo Buchner, poro grueso) y lavar con seis porciones de 15mL de la mezcla de ácido clorhídrico - alcohol al 60 por ciento, seguido de alcohol al 60 por ciento hasta que el filtrado esté libre de cloruros. Finalmente, lavar con 20 mL de alcohol, secar durante 1 hora a 105°, enfriar y pesar. Transferir exactamente una décima parte del total del peso neto de la muestra seca (representa 500 mg de la muestra original sin lavar) a un matraz Erlenmeyer de 250 mL y humedecer con 2 mL de alcohol. Agregar 100 mL de agua libre de dióxido de carbono, insertar el tapón y agitar ocasionalmente por rotación moderada hasta que la Pectina se disuelva por completo.

Agregar 5 gotas de fenolftaleína SR, valorar con hidróxido de sodio 0,5N SV y registrar los resultados como título inicial. Agregar 20,0mL de hidróxido de sodio 0,5N SV, insertar el tapón, agitar vigorosamente y dejar en reposo durante 15 minutos. Agregar 20,0mL de ácido clorhídrico 0,5N SV y agitar hasta que desaparezca el color rosa. Agregar fenolftaleína SR y valorar con hidróxido de sodio 0,5N SV hasta un color rosado tenue que persiste

después de agitar vigorosamente: registrar este valor como título de saponificación. Cada mL de hidróxido de sodio 0,5N utilizado en el título de saponificación equivale a 15,52 mg de $-\text{OCH}_3$.

Valoración de ácido galacturónico—Cada mL de hidróxido de sodio 0,5N utilizado en la volumetría total (el título inicial sumado al título de saponificación) en la Valoración de grupos metoxilo equivale a 97,07 mg de $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_7$.

ANEXO N° 15

Resultados de análisis Bromatológico y minerales.

 UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA AGRÍCOLA 

RESULTADO DE ANÁLISIS

Fecha de Emisión: Ciudad Universitaria, 29 de julio de 2019.
Tipo de Muestra: Hojas de Matial (MXU185)
Análisis solicitado: Bromatológico, Calcio y Fosforo
Usuario: Br. Cecilia Romero Hernández y Br. Claudia Lorena Grande

Muestra	Metodología						
	Gravimétrico			micro-Kjedahl	Soxhlet	Ankom	Diferencia
ID	%Humedad Total	%Materia Seca	%Ceniza	%Proteína Cruda	%Extracto Etéreo	%Fibra Cruda	%CHOS
MXU0185-2019	98.41	1.59	15.84	14.02	2.30	5.88	61.97
	UV	Fotometria-Llama					
	ppm P	ppm Ca					
	4.04	27283.56					

Resultados presentados en Base Seca

Analista: Lic. Guillermo Jacob Pineda Magaña

"HACIA LA LIBERTAD POR LA CULTURA"

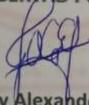

Lic. M.Sc. Freddy Alexander Carranza Estrada
Jefe del Departamento de Química Agrícola



Figura N° 43 Hoja de resultados del análisis bromatológico y minerales: calcio y fósforo.

ANEXO N° 16

Cuadro de ingesta diaria recomendada⁽⁹⁾

Tabla N°12 Aporte dietético recomendado, Ingesta adecuada (AI) requerimiento medio estimado (EAR) en adultos sanos >19 años

NUTRIENTE	Unidad	RDA H*	RDA M	AIH**	AIM
Proteína	g	56	46	EAR 46	EAR 38
Grasa	g	-	-	17	12
Fibra Total	g	-	-	38	25
Carbohidratos	g	130	130	EAR 100	EAR 100
Fósforo	mg	700	700	-	-
Calcio	mg	-	-	1000	1000

* RDA H Aporte dietético recomendado para hombres sanos

RDH M Aporte dietético recomendado para mujeres sanas

** AIH Ingesta adecuada para hombres sanos

AIM Ingesta adecuada para mujeres sanas

ANEXO Nº 17

Cálculos para discusión de resultados de análisis bromatológico y minerales: calcio y fósforo.

Ejemplo de cálculos

Proteína Cruda

Aporte dietético recomendado

Hombre 56 g

Mujer 46 g

56 g ----- 100%

14.02 g----- X= 25.03%

Grasa

17 g ----- 100%

2.30 g ----- X= 13.53%

Minerales

Calcio

ppm= mg/L

27,283.56 ppm = 27,283.56 mg/L

ppm =mg de soluto/ Litros de solución

27,283.56 mg/L= Xmg/1Litro de solución

27,283.56 mg/L (1 L)= Xmg

X= 27,283.56 mg

Anexo N°18
Reactivos y Cristalería

REACTIVOS, CRISTALERIA Y EQUIPOS UTILIZADOS PARA EXTRACCIÓN DE PECTINA A PARTIR DE ALVEDO Y FLAVEDO DE NARANJA POR EL METODO DE HIDROLISIS ACIDA.

Reactivos

- Ácido cítrico
- Alcohol 90°
- Agua bidestilada

Cristalería

- Vaso de precipitado 3,000 mL
- Vaso de precipitado 2,000 mL
- Agitador de vidrio
- Termómetro
- Agitador magnético
- Colador metálico
- Papel aluminio
- Vidrios de reloj

Equipo

- Balanza analítica
- Balanza granataria
- Hotplate
- Estufa
- pHmetro

REACTIVOS, CRISTALERIA Y EQUIPOS UTILIZADOS PARA LA REALIZACION DEL EXTRACTO ACUOSO DE MATIAL.

Reactivos

- Agua bidestilada
- Metilparabeno
- Propilparabeno

Cristalería

- Vaso de precipitado 1,000 mL
- Agitador de vidrio
- Papel Parafilm
- Papel carbón

Equipo

- Hotplate
- Limpiador ultrasónico

REACTIVOS, CRISTALERIA Y EQUIPOS UTILIZADOS PARA LA CARACTERIZACION DE LA PECTINA

Reactivos

- Alcohol 60 %
- Pectina
- NaOH 0.5 N
- NaOH ACS
- HCl 0.5 N
- HCl Concentrado
- Fenolftaleína

Cristalería

- Vasos de precipitados de 250 mL
- Agitador magnético

- Plumón indeleble
- Embudo Buchner
- Probetas
- Erlenmeyer
- Vidrio de reloj

Equipo

- Hotplate
- Estufa Thermo scientific

REACTIVOS, CRISTALERIA Y EQUIPOS UTILIZADOS LA PREPARACION DE MEZCLAS.

Equipo

- Hotplate

Reactivos

- Extracto acuoso de Matial
- Pectina

Materiales

- 1 vasos de precipitados de 500 mL
- 1 agitador magnético

REACTIVOS, CRISTALERIA Y EQUIPOS UTILIZADOS PARA LA TOMA DE VISCOSIDAD DE LAS MEZCLAS.

Cristalería

- Vaso de precipitado de 300 mL

- Agitador de vidrio

Equipo

- Viscosímetro

REACTIVOS, CRISTALERIA Y EQUIPOS UTILIZADOS PARA LA PREPARACION DE REACTIVOS

Preparación de Agua libre de CO₂

Reactivos

- Agua destilada

Cristalería

- Vaso de precipitado de 2000 mL
- Vidrio de reloj
- Agitador de vidrio

Equipo

- Hotplate

Preparación de NaOH 0.5 N

Reactivos

- Hidróxido de sodio ACS
- Agua libre de CO₂
- Biftalato de potasio
- Fenolftaleína SR

Cristalería

- Beaker plástico de 25 mL
- Beaker de 500 mL

- Balón volumétrico de 500 mL
- Erlenmeyer 250 mL
- Bureta de 50 mL
- Soporte metálico

Equipo

- Balanza Granataria

Preparación de HCl 0.5 N

Reactivos

- Ácido Clorhídrico 37%
- Agua destilada
- Trometamina
- Verde de bromocresol

Cristalería

- Beaker de 500 mL
- Balón volumétrico de 500 mL
- Erlenmeyer 250 mL
- Bureta de 50 mL
- Soporte metálico
- Probeta de 25 mL

Equipo

- Balanza Analítica

ANEXO Nº 19

Procedimientos para la preparación de reactivos

Procedimiento para la preparación de Agua libre de CO₂

1. Colocar 2000 mL de agua destilada en un vaso de precipitado de 2000 mL y colocarlo en hotplate.
2. Llevar a ebullición durante 5 minutos.
3. Tapar con vidrio de reloj.
4. Dejar enfriar hasta temperatura ambiente.

Preparación de agua preservada

1. Pesar 0.18 g de metilparabeno y 0.02 g de propilparabeno.
2. Calentar en hotplate 100 mL de agua destilada hasta alcanzar 80 °C.
3. Agitar hasta una disolución completa y dejar en reposo hasta alcanzar una temperatura ambiente.

Procedimiento para preparación de NaOH 0.5 N

1. Pesar en balanza granataria en vaso de precipitado plástico 20 g de Hidróxido de sodio ACS.
2. Verter en un vaso de precipitado de 500 mL aproximadamente 500 mL de agua libre de CO₂.
3. Disolver el Hidróxido de sodio en 100 mL de agua libre de CO₂ en cámara de extracción de gases y transferir a un balón de 500 mL, realizando 2 lavados al vaso de precipitado con agua libre de CO₂
4. Llevar a aforo el balón de 500 mL con agua libre de CO₂ y homogenizar.
5. Envasar en un frasco plástico de polietileno y etiquetar.

Estandarización

1. Pesar en un vaso de precipitado de 20 mL exactamente 2.5 g de biftalato de potasio (Previamente triturado y secado a 120 °C) en balanza analítica.
2. Disolver el biftalato previamente pesado en 75 mL de agua libre de CO₂ en un Erlenmeyer de 250 mL y agregar 2 gotas de fenolftaleína SR.
3. Valorar con la solución de hidróxido de sodio hasta obtener un color rosado permanente.

Cada 102.11 mg de biftalato de equivalen a 1 mL de hidróxido de sodio 0.5 N.

Procedimiento para preparación de HCl 0.5 N

1. Al balón de 500 mL agregar aproximadamente 300 mL de agua destilada.
2. Colocar el balón en un baño de hielo y adicionar por las paredes del balón volumétrico 21.5 mL de ácido clorhídrico al 37% (Realizar en cámara extractora).
3. Enfriar el contenido hasta temperatura ambiente.
4. Aforar el balón volumétrico con agua destilada.
5. Homogenizar el contenido del balón volumétrico.
6. Envasar el contenido en un frasco y etiquetar.

Estandarización

1. Pesar con exactitud 2.5 g de trometamina en un vaso de precipitado de 100 mL (secado a 105° durante 3 horas).
2. Disolver en 50 mL de agua y agregar 2 gotas de verde de bromocresol SR.
3. Valorar con ácido clorhídrico 0.5 N hasta un punto final amarillo pálido.

Cada 60.57 mg de trometamina equivalen a 1 mL de ácido clorhídrico 0,5 N.

Preparación de Fenolftaleína

1. Pesar 1 g de Fenolftaleína y transferirlo a un vaso de precipitado de 150 mL.
2. Diluir la Fenolftaleína en 100 mL alcohol.