

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



DETERMINACION DEL CONTENIDO DE CAROTENOIDES TOTALES EN
OCHO ESPECIES DE FRUTAS Y VERDURAS COMERCIALIZADAS EN
LA ZONA METROPOLITANA DE SAN SALVADOR

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:

BR. JESSICA TATIANA BURGOS SIERRA

BR. FAUSTO ROMAN CALDERON RIVERA

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

MARZO DE 2009

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MSc. RUFINO ANTONIO QUEZADA SANCHEZ

SECRETARIO GENERAL

LIC. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHAVEZ

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

SECRETARIA

MSc. MORENA LIZETTE MARTINEZ DE DIAZ

COMITE DE TRABAJO DE GRADUACION

COORDINADORA GENERAL

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo

**ASESORA DE AREA DE GESTION AMBIENTAL: TOXICOLOGÍA Y
QUÍMICA LEGAL**

Licda. María Luisa Ortíz de López

ASESORA DE AREA DE ANALISIS DE ALIMENTOS: FÍSICOQUÍMICO

Ing. Rina Lavinia Hidalgo de Medrano

DOCENTES DIRECTORES

MSc. Verónica Carmelina Díaz Avilés

Lic. René Francisco Ramos Alvarenga

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradecemos a Dios por permitirnos contar con el hermoso regalo de la vida y por brindarnos inteligencia para la realización de este trabajo que con tanto esfuerzo hemos culminado.

Además, agradecemos a nuestra familia que nos ha apoyado durante nuestros estudios y en el proceso de graduación, ya que sin su ayuda este triunfo no sería realidad.

Nuestros más sinceros agradecimientos a nuestros docentes directores MSc. Verónica C. Díaz y Lic. René F. Ramos por darnos la oportunidad, confianza, apoyo y asesoría para la ejecución de este proyecto de investigación.

Al mismo tiempo, a Lic. Odette Rauda, su apoyo fue muy importante durante la realización del trabajo.

Por último, queremos agradecer a todas esas personas que de una u otra manera colaboraron en la realización de esta investigación.

DEDICATORIA

Este logro se lo dedico primeramente a Dios Todopoderoso por tomarme de la mano y no dejarme sola en los momentos difíciles, habiéndome permitido finalizar con éxito el presente trabajo de investigación.

A mi mamita Lydia por haberme dado su apoyo tanto moral, afectivo, como económico para salir adelante, a Naldo, a mi papi y a mi mami por todo su apoyo y cariño brindado. Sin olvidar a mi hermanito que a parte de los que mencioné antes, es una de las personas que mas me inspira a salir adelante, y así poder ayudarlos en lo posible con el fruto de mi esfuerzo.

A mis docentes directores por darnos su confianza, y quienes con sus conocimientos nos brindaron mucho apoyo en la realización de este trabajo de investigación.

A mis amigos/as y aquellas personas a quienes no menciono en esta dedicatoria porque podría omitir a alguien, pero quien cada uno de ellos en alguna manera me extendió su ayuda durante el proceso de graduación.

Jessica Tatiana Burgos Sierra

DEDICATORIA

Primeramente a mis padres por su apoyo incondicional desde mis primeros años de estudio, por haberme guiado por el camino de la rectitud y la disciplina, mis primeros maestros.

Dedicado también a mis hermanos que han sido parte de la inspiración para finalizar mi carrera universitaria; además para quienes forman parte importante de mi vida y merecen disfrutar el triunfo logrado con este trabajo y mucho esfuerzo durante los pasados años.

A todos ustedes se los dedico y les agradeceré siempre.

Fausto Román Calderón Rivera

INDICE

Resumen	
Capítulo I	
1. Introducción	xviii
Capítulo II	
2.0 Objetivos	
1.1. Objetivo general	
1.2. Objetivos específicos	
Capítulo III	
3.0 Marco teórico	
3.1 Alimentos funcionales	24
3.1.1 Tipos de alimentos funcionales	25
3.2 Antioxidantes	27
3.2.1 Clasificación de antioxidantes	29
3.3 Carotenoides	30
3.3.1 Presencia y distribución	31
3.3.2 Biosíntesis de los carotenoides	33
3.3.3 Estructura de los carotenoides	35
3.3.4 Clasificación de carotenoides	36
3.3.5 Propiedades generales de los carotenoides	36
3.3.6 Propiedades benéficas de los carotenoides	42
3.4 Análisis de carotenoides en alimentos	46
3.4.1 Precauciones generales	46
3.4.2 Preparación de la muestra	48
3.4.3 Elección del solvente de extracción	48
3.4.4 Extracción	49
3.4.5 Remoción de materia grasa	50
3.5 Determinación cuantitativa de carotenoides por espectrofotometría Ultravioleta-visible	50
3.6 Características generales de las frutas y verduras analizadas	53
Capítulo IV	
4.0 Diseño metodológico	72
4.1 Tipo de estudio	72
4.2 Investigación bibliográfica	72

4.3 Investigación de campo	73
4.4 Investigación experimental	75
Capítulo V	
5.0 Resultados e interpretación de resultados	81
Capítulo VI	
6.0 Conclusiones	106
Capítulo VII	
7.0 Recomendaciones	110
Bibliografía	
Glosario	
Anexos	

INDICE DE ANEXOS

Anexo N°

1. Estructuras químicas de carotenoides comunes
2. Secuencia fotográfica de preparación de las muestras para el análisis.
3. Listado de materiales, equipo y reactivos utilizados en la determinación de humedad y del contenido de carotenoides totales en las especies vegetales analizadas.
4. Secuencia fotográfica del proceso para la determinación de humedad en frutas y verduras.
5. Secuencia fotográfica del proceso para la determinación del contenido de carotenoides totales.

INDICE DE FIGURAS

Figura N°	
1.	Ruta biosintética de los carotenoides. 26
2.	Estructura de luteína, zeaxantina, 5,6-epoxiluteína, anteraxantina y violaxantina, carotenoides comúnmente encontrados en alimentos. 30
3.	Espectro de absorción UV/VIS general para los carotenoides, donde la longitud de onda de máxima absorción se representa en números romanos. 35
4.	Imagen de chile pimiento. 50
5.	Imagen de jocote pitarrillo amarillo. 52
6.	Imagen de maracuyá. 54
7.	Imagen de mamey. 57
8.	Imagen de mango. 59
9.	Imagen de maíz dulce. 62
10.	Imagen de papaya. 64
11.	Imagen de zanahoria. 66
12.	Extractos vegetales de las especies en estudio. 77
13.	Espectro de absorción UV/VIS del contenido de carotenoides totales en el chile rojo. 80
14.	Espectro de absorción UV/VIS del contenido de carotenoides totales en el chile anaranjado. 81
15.	Espectro de absorción UV/VIS del contenido de carotenoides totales en el chile amarillo. 83
16.	Espectro de absorción UV/VIS del contenido de carotenoides totales en mamey. 84
17.	Espectro de absorción UV/VIS del contenido de carotenoides totales en papaya. 85
18.	Espectro de absorción UV/VIS del contenido de carotenoides totales en maíz dulce. 86

19. Espectro de absorción UV/VIS del contenido de carotenoides totales en zanahoria.	87
20. Espectro de absorción UV/VIS del contenido de carotenoides totales en maracuyá.	88
21. Espectro de absorción UV/VIS del contenido de carotenoides totales en Mango.	89
22. Espectro de absorción UV/VIS del contenido de carotenoides totales en Jocote pitarrillo amarillo.	91
23. Estructura de carotenoides y xantofilas comunes en alimentos.	
24. Enjuague de las frutas y verduras.	
25. Partición y trituración de las muestras en pequeños trozos para las distintas determinaciones.	
26. Pesada de muestras para determinación de humedad.	
27. Secar muestra a 70°C.	
28. Sacar muestra del horno y dejar enfriar en desecador.	
29. Pesar muestra seca.	
30. Pesar 2.0 g de muestra para carotenoides.	
31. Adición de solvente para carotenoides a la muestra.	
32. Homogenización de la muestra con solvente para carotenoides.	
33. Filtración al vacío de la solución con carotenoides.	
34. Balones volumétricos con filtrado y aforados con solvente para carotenoides.	
35. Transferencia de solución con carotenoides en ampollas de separación.	
36. Separación de fases.	
37. Calibración del espectrofotómetro UV-VIS Lambda 35.	
38. Medición de absorbancias de la fase orgánica.	

INDICE DE TABLAS

Tabla N°

1. Sitios y mecanismos de acción de algunos antioxidantes presentes en frutas y verduras.	26
2. Carotenos y xantofilas comunes en frutas y verduras.	30
3. Propiedades químicas y físicas de los carotenoides.	38
4. Propiedades benéficas de los carotenoides.	43
5. Coeficientes de absorción específica usados para la cuantificación de carotenoides.	49
6. Composición nutricional del chile pimienta amarillo.	52
7. Composición nutricional del chile pimienta rojo.	52
8. Composición nutricional del Jocote pitarrillo amarillo.	54
9. Composición nutricional del Maracuyá.	56
10. Composición nutricional del Mamey.	58
11. Composición nutricional del Mango.	61
12. Composición nutricional del Maíz dulce.	64
13. Composición nutricional de la Papaya.	66
14. Composición nutricional de la Zanahoria.	68
15. Colores de carotenoides comunes en alimentos color amarillo, rojo y anaranjado.	78
16. Absorción máxima de los carotenoides para el espectro visible usando hexano como solvente.	79
17. Longitudes de onda de ciertos carotenoides.	82
18. Posibles carotenoides presentes en las ocho especies vegetales en estudio.	92
19. Contenido de carotenoides totales (CCT) en ocho especies vegetales.	95

20. Diferencia en porcentaje, entre las concentraciones de carotenoides totales calculadas en base seca y base húmeda, expresada en μg de β -caroteno eq/100g.	97
21. ANOVA del contenido de carotenoides totales (CCT) en ocho especies vegetales en base húmeda.	98
22. ANOVA para el contenido de carotenoides totales en las tres variedades de chile en estudio.	99
23. ANOVA para el contenido de carotenoides totales en base seca determinados en las ocho especies vegetales analizadas.	99
24. ANOVA para el contenido de carotenoides totales determinados en base seca en las tres variedades de chile pimiento.	99

ABREVIATURAS

BHT: Butilhidroxitolueno

BHA: Butilhidroxianisol

GGPP: Geranil geranil difosfato

UV/VIS: Ultravioleta-visible

CAR: Carotenoide

e⁻: Electrón

R: Radical

LDL: Lipoproteína de baja densidad (en inglés: Low density lipoprotein)

THF: Tetrahidrofurano

v/v: volumen/volumen

v/v/v: volumen/volumen/volumen

p/v: peso/volumen

nm: nanómetros

CCT: Contenido de carotenoides totales

p: Nivel de significancia

gL: Grados de libertad

ANOVA: Análisis de varianza

RESUMEN

El interés en los carotenoides y otros fitoquímicos antioxidantes se enfoca en la posible relación con la disminución en el riesgo a desarrollar enfermedades crónico-degenerativas debidas a estrés oxidativo.

Partiendo de esto y de la carencia de datos del contenido de carotenoides totales en vegetales comercializados en el país, se planteó como objetivo principal la determinación del contenido de carotenoides totales en ocho especies comercializadas en la Zona Metropolitana de San Salvador.

Se analizaron ocho especies de frutas y verduras, una de ellas (chile pimiento) en tres de sus variedades, como sigue: Determinación de humedad, cuantificación del contenido de carotenoides totales utilizando el método espectrofotométrico a 470 nm, recomendado por Talcott y Howard (1999) descrito por Campos D. et. al. Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza.

Los resultados más relevantes fueron: ***Capsicum annum var.rubrum*** (chile rojo) posee un contenido de carotenoides totales de 104498.35 μg de β -caroteno eq/100g. Seguido en orden descendente por: chile anaranjado, zanahoria, jocote, papaya, mamey, chile amarillo, mango, maracuyá, maíz dulce. El estudio reveló que la zanahoria aún cuando posee como principal carotenoide al β -caroteno, muestra una concentración de carotenoides totales (68879.57 μg de β -caroteno eq/100g) por debajo de la encontrada en el chile rojo y chile anaranjado.

Se concluye que las frutas y verduras analizadas contienen una mezcla de carotenoides, la intensidad de coloración en sus extractos orgánicos, depende de cuales carotenoides están presentes y de sus concentraciones. Además, existen diferencias significativas en el contenido de carotenoides totales en las ocho especies vegetales en estudio, incluso en las tres variedades de la misma especie (chile pimiento).

Se recomienda a las instituciones de salud pertinentes, implementar programas de educación nutricional que promuevan el consumo de frutas y verduras tradicionales y no tradicionales comercializadas en la Zona Metropolitana de San Salvador. Así también, desarrollar estudios que revelen si la población salvadoreña consume la cantidad necesaria de compuestos antioxidantes a partir de su dieta alimenticia, ya que se recomienda un consumo diario de 5 a 7 raciones de frutas y verduras, para lograr un balance entre agentes oxidantes y antioxidantes en el organismo.

CAPÍTULO I
INTRODUCCIÓN

1.0 INTRODUCCION

Actualmente se ha considerado una nueva alternativa para solucionar o menguar la elevada tasa de padecimientos de cáncer a nivel mundial; tomando en cuenta compuestos naturales encontrados en alimentos. Es así como se ha enfocado una gran importancia a las propiedades antioxidantes inherentes a muchos compuestos, y que podrían contribuir en la prevención de enfermedades degenerativas como el cáncer, ejemplo de ellos son los compuestos fenólicos, tocoferoles y carotenoides ⁽²⁹⁾.

La relación encontrada entre una alta ingesta de vegetales y la disminución del riesgo a padecer enfermedades degenerativas, tales como el cáncer o enfermedades cardiovasculares, han incrementado el interés por analizar el contenido de carotenoides en muestras vegetales ⁽²³⁾.

Debido a la importancia del tema, en este trabajo de investigación, se hizo un reconocimiento a la importancia del consumo de frutas y vegetales, no únicamente con el objeto de mantener una buena nutrición, sino además, enfocados en los beneficios adicionales que estos alimentos son capaces de proveer para una buena salud.

El presente estudio tiene como principal objetivo determinar y cuantificar la presencia de carotenoides en ocho diferentes especies vegetales, una de las cuales fue estudiada en tres de sus variedades, que son comercializadas y consumidas en la zona metropolitana de San Salvador. En dicho estudio se empleó un método espectrofotométrico ultravioleta/visible para

la cuantificación de carotenoides totales en base seca y húmeda, basados en las propiedades espectroscópicas de los mismos.

Adicionalmente, se realizó un análisis estadístico de los resultados para comparar si existen diferencias significativas en cuanto al contenido de carotenoides totales en las muestras analizadas.

CAPÍTULO II

OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el contenido de carotenoides totales en ocho especies vegetales comercializados en la Zona Metropolitana de San Salvador.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS:

2.2.1 Obtener los extractos orgánicos de: ***Capsicum annuum var. rubrum*** (chile rojo), ***Capsicum annuum var. flavum*** (chile amarillo) y ***Capsicum aannuum*** (chile anaranjado); ***Spondias purpúrea sp.*** (jocote pitarrillo amarillo), ***Passiflora edulis f. flavicarpa*** (maracuyá), ***Mammea americana*** (mamey), ***Mangífera indica*** (mango), ***Zea mays var. rugosa*** (maíz dulce), ***Carica papaya*** (papaya) y ***Daucus carota sp.***(zanahoria).

2.2.2 Obtener los espectros de absorción UV/VIS de los extractos de ***Capsicum annuum var. rubrum*** (chile rojo), ***Capsicum annuum var. flavum*** (chile amarillo) y ***Capsicum aannuum*** (chile anaranjado); ***Spondias purpúrea sp.*** (jocote pitarrillo amarillo), ***Passiflora edulis f. flavicarpa*** (maracuyá), ***Mammea americana*** (mamey), ***Mangífera indica*** (mango), ***Zea mays var. rugosa*** (maíz dulce), ***Carica papaya*** (papaya) y ***Daucus carota sp.*** (zanahoria).

2.2.3 Cuantificar el contenido de carotenoides totales en base seca y húmeda, expresados como μg de β -caroteno equiv/100 g, de las especies: ***Capsicum annuum var. rubrum*** (chile rojo),

Capsicum annum var. flavum (chile amarillo) y ***Capsicum annum*** (chile anaranjado); ***Spondias purpúrea sp.*** (jocote pitarrillo amarillo), ***Passiflora edulis f. flavicarpa*** (maracuyá), ***Mammea americana*** (mamey), ***Mangífera indica*** (mango), ***Zea mays var. rugosa*** (maíz dulce), ***Carica papaya*** (papaya) y ***Daucus carota sp.*** (zanahoria).

2.2.4 Establecer por análisis estadístico la existencia o no de diferencias significativas entre el contenido de carotenoides totales cuantificados en los diversos frutos y vegetales evaluados.

CAPÍTULO III
MARCO TEÓRICO

3.0 MARCO TEÓRICO

Una de las principales razones de por qué el cáncer, así como otras enfermedades degenerativas, afectan la salud de la población a nivel mundial, es el consumo de alimentos no saludables, lo que genera un desbalance en los elementos que se ven implicados en el desarrollo y control de esta enfermedad, tales como la cantidad de calorías en la dieta, contenido en grasa y en fibra vegetal, el alcohol, las vitaminas E y C, la vitamina A y los β -carotenos, las frutas cítricas y las hojas verdes. El conocimiento acerca de las funciones benéficas por parte de las frutas y vegetales para mantener la salud humana y reducir el riesgo al padecimiento de enfermedades es cada día mayor, y por ello profesionales dedicados al área sugieren más en educar a la población a incorporar, una dieta sana, variada y equilibrada. Como consecuencia de esta situación, surgen los alimentos funcionales que pueden compensar los desequilibrios alimentarios o garantizar la ingesta de nutrientes recomendadas por los especialistas en nutrición ^(10, 27, 29).

3.1 ALIMENTOS FUNCIONALES

Según Gibson y Roberfroid (1995), los alimentos funcionales se definen como: Un ingrediente dietario que posee un efecto específico, en el consumidor para ejercer beneficios que pueden, en forma adecuada, suplir ciertas demandas de salud ⁽²⁷⁾.

Una definición alterna de alimentos funcionales es la siguiente: alimento con apariencia similar al convencional, el cual es consumido como parte de la

dieta normal, pero que ha sido modificado para que cumpla funciones fisiológicas más allá de la simple provisión nutricional ⁽²⁷⁾.

Se consideran alimentos funcionales aquellos que, con independencia de aportar nutrientes, han demostrado científicamente que afectan beneficiosamente a una o varias funciones del organismo, de manera que proporcionan un mejor estado de salud ⁽²⁹⁾.

3.1.1 TIPOS DE ALIMENTOS FUNCIONALES.

Los alimentos funcionales deben de consumirse dentro de una dieta sana y equilibrada, y en las cantidades en las cuales se consumen habitualmente otros alimentos ⁽²⁹⁾.

Entre los principales tipos de alimentos funcionales se encuentran los siguientes:

- a) Alimentos fortificados.
- b) Alimentos enriquecidos.
- c) Productos modificados.
- d) Productos mejorados.

a) Alimentos fortificados.

Son aquellos alimentos que han sido reforzados con nutrientes adicionales, incrementando el contenido de los ya existentes, es el tipo más sencillo de alimentos funcionales. Ejemplo de ellos incluyen la incorporación de ácido fólico a granos y varios jugos de frutas que son fortificados con vitamina C. Este proceso de fortificación ha probado ser un mecanismo efectivo y

económico para mejorar la calidad nutricional y proveer beneficios a los consumidores ⁽⁴⁸⁾.

b) Alimentos enriquecidos.

Es una incorporación adicional de componentes del alimento o la adición de un componente normalmente no encontrado en cantidades adecuadas en un alimento en particular. Un ejemplo de este tipo de alimento es el jugo de naranja enriquecido con calcio ⁽⁴⁸⁾.

c) Productos modificados.

Son alimentos a los cuales se les ha reemplazado compuestos dañinos o indeseables por componentes más beneficiosos, idealmente sin afectar la calidad del producto. Ejemplo de este tipo de alimentos son los productos altos en fibra reemplazadores de grasa, producidos a partir de productos de grano ⁽⁴⁸⁾.

d) Productos mejorados.

Se refiere a cambios que se realizan en los materiales crudos, en los cuales los productores desarrollan ricas variedades de cultivos, alterando su composición nutricional, proveyendo así, importantes beneficios para los consumidores ⁽⁴⁸⁾.

Ejemplos de estos incluyen, maíz alto en lisina, frutas y vegetales con su contenido de vitaminas incrementado ⁽⁴⁸⁾.

En forma creciente se han atribuido a los carotenoides funciones y acciones biológicas. De hecho, por mucho tiempo se ha sabido de la actividad de

provitamina A de los carotenoides. Se estima que aproximadamente el 60% de la vitamina A dietaria proviene de las provitaminas A que se encuentran en alimentos de origen vegetal. Debido al elevado precio de los alimentos de origen animal, la contribución dietaria de la provitamina A, que provienen de vegetales, aumenta a un 82% en los países en desarrollo. También, la provitamina A tiene la ventaja de convertirse a vitamina A sólo cuando el cuerpo lo requiere; evitando así, la toxicidad potencial de una sobredosis de vitamina A ⁽⁴⁶⁾.

3.2 ANTIOXIDANTES

Desde el punto de vista biológico un antioxidante es cualquier sustancia que al presentarse en menor concentración comparada a la de aquellos sustratos oxidables, disminuyen o previenen significativamente la oxidación de dicho sustrato. Un antioxidante puede ser considerado como cualquier molécula que retarde o prevenga la acción de los agentes oxidantes ⁽³⁴⁾.

Los antioxidantes ayudan a prevenir la degradación de biomoléculas como proteínas, lípidos de membrana, carbohidratos y ácidos nucleicos, así como el ataque de los radicales libres sobre dichas moléculas biológicas. Los radicales libres son compuestos con un electrón desapareado que puede ser especialmente destructivo en las áreas electrónicamente densas de la célula, como el ácido desoxirribonucleico (DNA, por sus siglas en inglés) y la membrana celular ⁽⁴⁴⁾.

Un radical libre es considerado como un agente oxidante, y se genera cuando una molécula pierde un electrón, quedando de esta manera con un

electrón desapareado, lo cual provoca inestabilidad en la molécula o átomo. Esta molécula tratará de estabilizarse de nuevo buscando un electrón. La formación de radicales libres en los sistemas humanos es muy problemático, debido a que muchas moléculas de nuestro cuerpo participan en las funciones fisiológicas normales del organismo. Muchas de las moléculas que se encuentran en contacto con los radicales libres terminan siendo destruidas o dañadas ⁽¹⁴⁾.

Los agentes antioxidantes suministran preferentemente el átomo de hidrógeno necesario al radical libre para restablecer su estructura electrónica, en el proceso, el antioxidante extrae la energía que de otra forma estaría disponible para la formación de un nuevo radical libre, lo que perpetuaría una reacción en cadena ⁽¹⁵⁾.

Los compuestos antioxidantes encontrados en frutas y verduras, como, la vitamina C, carotenoides y fenólicos, son químicamente diversos y se encuentran en diferentes tejidos de plantas y células; pueden diferir en tamaño, solubilidad y susceptibilidad a la oxidación. De igual manera, también poseen un mecanismo de acción diferente para lograr su efecto antioxidante dentro del organismo (ver tabla N° 1) ⁽³⁰⁾.

Tabla N° 1. Sitios y mecanismos de acción de algunos antioxidantes presentes en frutas y verduras ⁽²⁸⁾.

Grupo antioxidante	Mecanismo antioxidante	Sitios de acción
Vitamina C	Donación directa de electrones. Reducción enzimática. Neutralizando especies reactivas de oxígeno	Grupos OH vecinales
Carotenoides	Donación de electrones. Neutralización de especies reactivas de oxígeno	Dobles enlaces conjugados
Fenólicos	Donación de electrones. Quelación de iones metálicos. Ahorro de Acido ascórbico. Neutralización de especies reactivas de oxígeno	Grupos OH vecinales Dobles enlaces conjugados

Como puede observarse en la tabla N° 1, las propiedades antioxidantes de la vitamina C, carotenoides y fenólicos, resulta de sus estructuras con abundancia en electrones, en forma de dobles enlaces o grupos hidroxilos ⁽³⁰⁾.

3.2.1 Clasificación de antioxidantes ⁽⁷⁾

Los antioxidantes pueden clasificarse en dos grupos principales:

- a) Sintéticos.
- b) Naturales.

a) Antioxidantes sintéticos.

Entre los antioxidantes sintéticos más ampliamente usados se encuentran los siguientes: Galato de propilo, octilo y dodecilo, 2,6-Di-terc-butil-p-cresol (BHT), terc-Butil-4-hidroxianisol (BHA) y palmitato de ascorbilo ⁽⁷⁾.

Los cuales son utilizados principalmente en la industria alimenticia, para la conservación de productos que contienen grasas, o son susceptibles a la oxidación ⁽⁷⁾.

b) Antioxidantes naturales.

Estos juegan un papel importante en la naturaleza, y pueden encontrarse en diversas fuentes vegetales y animales. Así se tiene por ejemplo los siguientes: α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol, ácido ascórbico, compuestos fenólicos y carotenoides ⁽⁷⁾.

3.3 CAROTENOIDES

Los carotenoides son los pigmentos orgánicos (rojo, amarillo y naranjas) mayormente distribuidos en la naturaleza. Se estima que la producción anual de carotenoides en la naturaleza es de alrededor de 10^8 toneladas. Estos pigmentos son sintetizados en su mayoría por algas de los océanos, algunas clases de hongos (*Phycomyces*) y bacterias (*Flavobacterium multivorum* y *Brevibacterium linens*) ^(22, 27).

En las plantas superiores, los carotenoides de los cloroplastos están enmascarados por los pigmentos de clorofila más dominantes ⁽²²⁾.

En 1831, Wackenoder aisló el β -caroteno en forma cristalina a partir de la zanahoria, dándole el nombre que lleva ahora “caroteno”, derivado de la denominación latina de este vegetal ***Daucus carota*** ⁽²²⁾.

Alrededor de 1929 los investigadores de Von Euler, Karrer y Moore demostraron la relación entre los carotenoides y la vitamina A, revelando su

valor nutricional. Gracias a los continuos estudios desarrollados sobre los carotenoides, se conoce la existencia de más de 600 compuestos pertenecientes a este grupo ^(27, 36).

Es de esta manera como, desde hace varias décadas, se sabe que los carotenoides juegan funciones muy importantes en la fotosíntesis y en la protección de los tejidos vegetales. Pero el papel más importante en la dieta humana es su capacidad para funcionar como precursor de la vitamina A. Sin embargo, para obtener beneficios de los carotenoides, estos deben absorberse, transportarse y ser depositados en ciertos tejidos ⁽²⁷⁾.

3.3.1 PRESENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE LOS CAROTENOIDES.

Los carotenoides están muy difundidos en la naturaleza. Son sintetizados por plantas y muchos microorganismos (bacterias, levaduras, hongos y microalgas). En los vegetales superiores, los carotenoides se encuentran en las hojas, junto a la clorofila, así como en muchas otras partes de la planta. Se encuentran en frutas rojas, amarillas y naranjas, en hortalizas y raíces comestibles. En la dieta, fuentes mayoritarias de β -caroteno incluyen las zanahorias, espinacas, acelgas, brócoli, níspero, pimiento rojo y apio verde. Fuentes de luteína representan las espinacas, acelgas, brócoli, apio verde, espárrago verde y maíz. La β -criptoxantina está presente mayoritariamente en mandarina, níspero, naranja y pimiento rojo, mientras que α -caroteno se encuentra en zanahorias, plátano, judías verdes y aguacate, principalmente. Buenas fuentes de zeaxantina incluyen espinacas, pimientos rojos, naranja, melocotón y maíz; mientras que el licopeno se presenta, casi

exclusivamente en tomate y derivados, sandía y cereza. En las frutas las xantofilas son el tipo de carotenoides mayormente encontrado. Pero, en general, las mayores concentraciones de carotenoides se encuentran en aquellos tejidos con gran cantidad de clorofilas ^(6, 22, 27).

Los carotenoides constituyen también, los principales pigmentos de ciertas flores amarillas, anaranjadas y rojas. Además, se encuentran dispersos en los componentes lipídicos de ciertos productos alimenticios de origen animal, tales como la leche, mantequilla, yema de huevo, mariscos y peces ⁽¹⁶⁾.

Son varios los factores que afectan el contenido de carotenoides en las plantas, entre los cuales se pueden mencionar, los factores genéticos, el estadio de madurez del vegetal, su procesamiento y almacenamiento; factores ambientales como, la exposición a la luz (a mayor exposición mayor concentración de carotenoides), condiciones del cultivo y enfermedades de los vegetales ^(22, 32).

En la tabla N° 2, se presentan los pigmentos más comunes encontrados en frutas, verduras y alimentos en general.

Tabla N° 2. Carotenos y xantofilas comunes en frutas y verduras ⁽²⁷⁾.

Carotenoide	Presencia natural
Carotenos	
α - caroteno, β - caroteno, δ - caroteno, γ - caroteno, ε - caroteno, ζ - caroteno	Frutas y verduras, especialmente en zanahorias, papa dulce y frutos secos
Licopeno, neurosporeno	Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>), sandía
Fitoflueno, fitoeno	Frutas ricas en carotenoides, flores y raíces (zanahorias)
Trans β -caroteno, trans luteína, 9-cis luteína, 90-cis luteína, 13-cis luteína, trans and cis luteína epóxido, neoluteína	Brócoli, espinaca
Todos los β -carotenos trans, lactucaxantina, trans luteína	Lechuga
Xantofilas	
Anteraxantina	Anteras y pétalos de flores amarillas; además frutas y verduras
Luteína más zeaxantina	Espinaca, brócoli, lechuga, maíz, coles de Bruselas
Bixina, norbixina	Semillas de <i>Bixa Orellana</i> (Achiote)
Capsantina, capsantina 5,6-epóxido, capsorubina	<i>Capsicum annuum</i> maduro (Chile pimienta)
Luteína, violaxantina, neoxantina, mutatoxantina (en menor cantidad)	Frutas verdes, verduras y flores
Zeaxantina, β - criptoxantina, α - criptoxantina, criptoxantina 5,6- epóxido	Semillas (maíz), flores y frutas: mango, papaya, maracuyá

3.3.2 BIOSÍNTESIS DE LOS CAROTENOIDES

El proceso de biosíntesis que da lugar a los carotenoides, consiste en la condensación de dos moléculas de geranyl geranyl difosfato (GGPP), formando un intermediario ciclopropánico: el pirofosfato de prefitoeno ⁽⁸⁾.

El fitoeno sufre una serie de desaturaciones sucesivas, introduciendo nuevos dobles enlaces en la cadena de carbono, resultando en una expansión de dobles enlaces conjugados. Cambios estructurales sucesivos como la ciclización de uno o ambos extremos, hidroxilación o introducción de otros grupos oxigenados, dan origen a un amplio rango de estructuras de carotenoides. En el siguiente esquema (figura N° 1), se muestra la ruta biosintética de los carotenoides ⁽²⁷⁾.

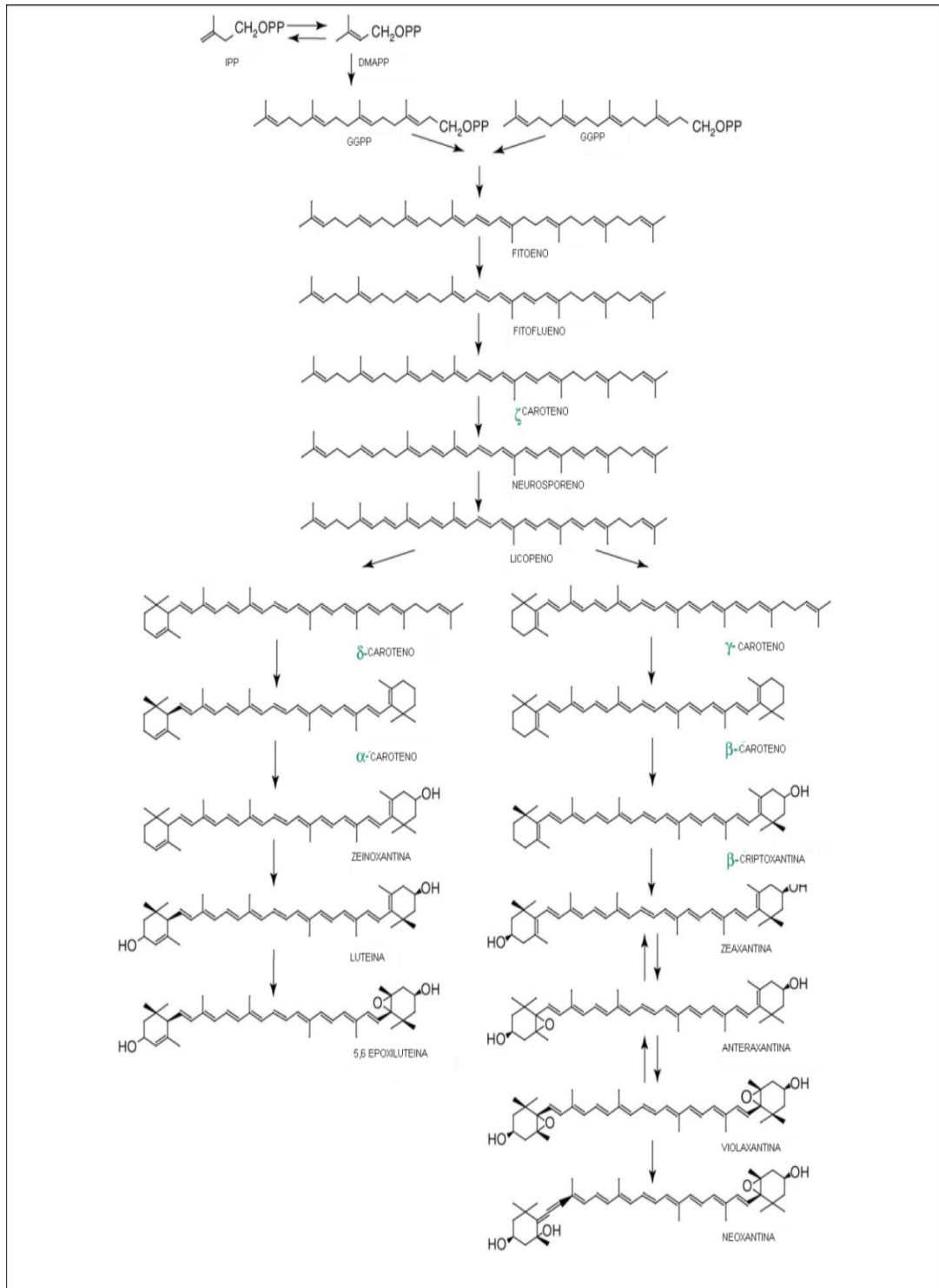


Figura N° 1. Ruta biosintética de los carotenoides ⁽³²⁾.

3.3.3 ESTRUCTURA DE LOS CAROTENOIDES

Los pigmentos carotenoides pertenecen a una serie de compuestos naturales que se consideran polímeros del isopreno, estos son los llamados terpenos. Por poseer los carotenoides 40 átomos de carbono se clasifican dentro de los tetraterpenos (terpenos superiores); dichos pigmentos tienen una larga cadena central de dobles enlaces conjugados, formados por hidrogenación, deshidrogenación, ciclización, oxidación o alguna combinación de estos procesos. Los carotenoides oxigenados (xantofilas), poseen grupos funcionales como el hidroxilo, metoxi, carboxi, oxo, aldehído y epóxido. Las estructuras de algunos carotenos comúnmente encontrados en alimentos se muestran en la figura N° 2 (más estructuras de carotenoides se muestran en el anexo N° 1) ^(27, 42).

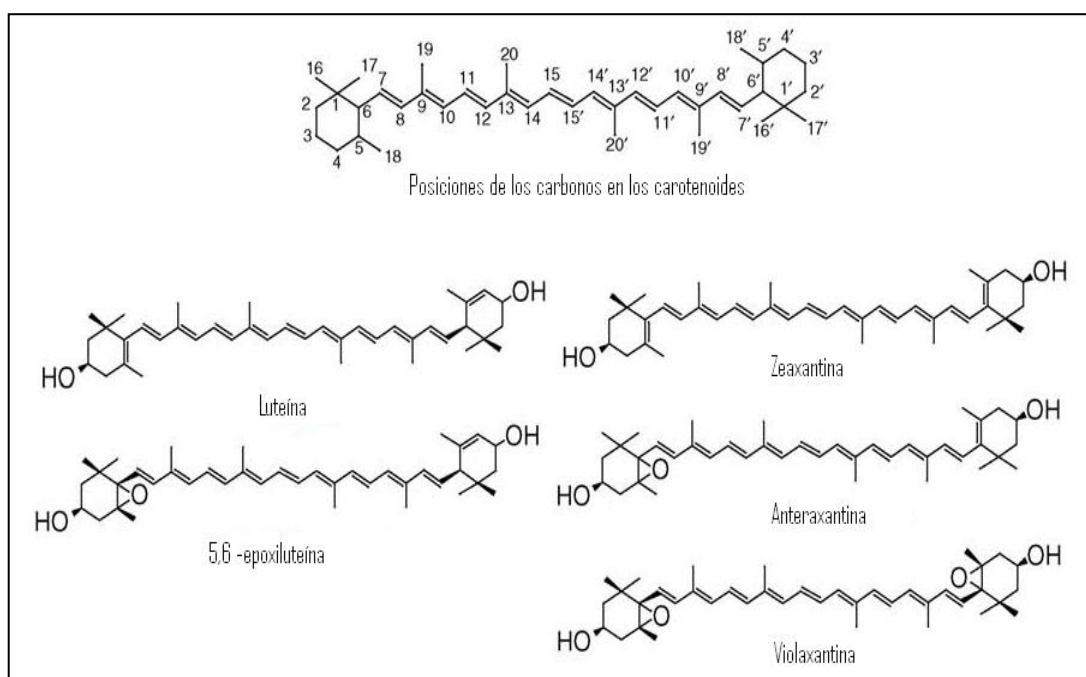


Figura N° 2. Estructura de luteína, zeaxantina, 5,6-epoxiluteína, anteraxantina y violaxantina, carotenoides comúnmente encontrados en alimentos ⁽³²⁾.

3.3.4 CLASIFICACIÓN DE CAROTENOIDES

Los carotenoides pueden clasificarse dentro de dos grandes grupos:

- a) Carotenos
- b) Xantofilas

a) Carotenos: Son estrictamente hidrocarburos. Pueden ser ácidos o poseer un anillo de 5 a 6 carbonos unido a uno o ambos extremos de la molécula ⁽²²⁾.

b) Xantofilas: Carotenoides oxigenados. Forman un grupo de derivados que frecuentemente contiene grupos hidroxilo, epoxilo, aldehído o cetona ⁽²²⁾.

Otros carotenoides pueden tener cadenas de carbonos más cortos y se conocen como apocarotenos ⁽²⁷⁾.

3.3.5 PROPIEDADES GENERALES

3.3.5.1 PROPIEDADES FÍSICAS

Debido a su naturaleza, los carotenoides son solubles en disolventes apolares y su grado de solubilidad dependerá de los grupos sustituyentes de la molécula, propiedad que se utiliza para los proceso de extracción y purificación de los mismos. Los carotenos son preferiblemente más solubles en éter de petróleo y hexano, mientras que las xantofilas se solubilizan en metanol o etanol. En general los carotenoides son sensibles a la luz, oxígeno, calor, ácidos y peróxidos ⁽⁶⁾.

3.3.5.2 PROPIEDADES ESPECTROSCÓPICAS

Por poseer un extenso sistema de dobles enlaces conjugados suelen ser sustancias coloreadas. Un cromóforo con siete o más dobles enlaces posee la capacidad de absorber radiación en la región ultravioleta visible y por consecuencia la absorción de colores que van desde el amarillo al rojo, y gran variedad de tonos naranja. Como en el ζ -caroteno, el cual es amarillo suave. El fitoflueno con cinco enlaces dobles es incoloro. El color se acentúa a medida que se extiende el sistema conjugado, así el licopeno es rojo. La ciclación causa algún impedimento, por tanto el β -caroteno y el γ -caroteno son de color naranja y rojo-naranja respectivamente, aunque tienen el mismo número de enlaces dobles conjugados que el licopeno (once). La intensidad y matiz de los colores en los alimentos dependen de cuales carotenoides están presentes, sus concentraciones y estado físico ^(45, 46).

El espectro visible de los carotenoides es bastante característico en el rango de 400 a 500 nm. Se observa un máximo alrededor de 450 nm y generalmente se aprecian dos máximos u hombros a cada lado ^(27, 36).

Para un carotenoide específico dado, las posiciones de las bandas de máxima absorción están en función del número de dobles enlaces conjugados presentes en la molécula. La imagen que se muestra a continuación, representa un espectro de absorción ultravioleta/visible general para carotenoides (figura N° 3) ⁽²⁷⁾.

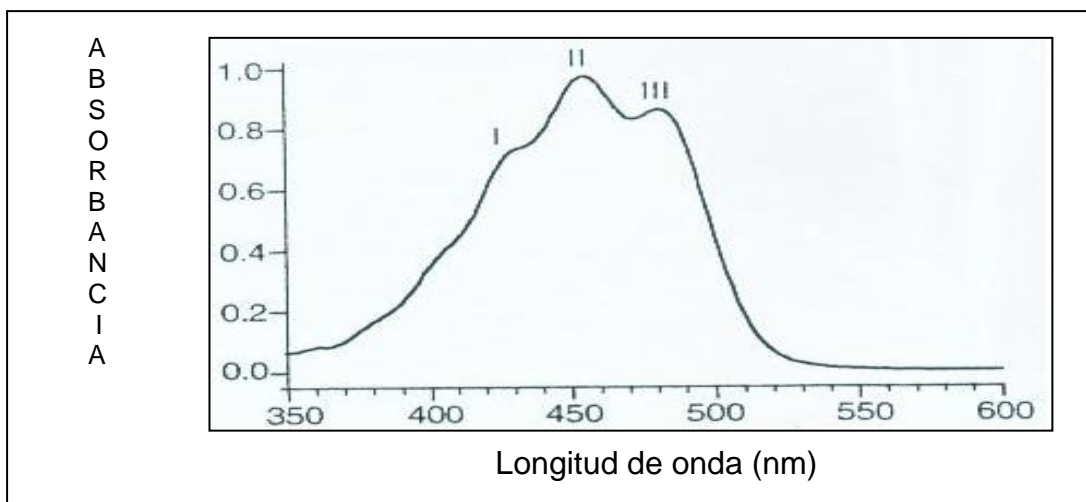


Figura N° 3. Espectro de absorción ultravioleta/visible general para los carotenoides, donde la longitud de onda de máxima absorción se representa en números romanos ⁽²⁷⁾.

La imagen del espectro de absorción de los carotenoides, su posición de máxima absorción, puede variar dependiendo de la interacción de estas moléculas con el solvente o el medio lipídico en el cual ha sido disuelto. En general, los solventes de baja polaridad poseen poco efecto sobre la posición de máxima absorción, por ello para un determinado carotenoide, los valores de longitud máxima son casi idénticos en el hexano, petrolato líquido, dietil éter, metanol y etanol. La acetona, usada comúnmente en extractos de carotenoides, causa un desplazamiento batocrómico alrededor de 2 a 6 nm en la máxima absorción comparado con los anteriormente mencionados. En cambio, los solventes altamente polares tales como cloroformo y benceno causan un pronunciado desplazamiento batocrómico (10 a 25 nm), el desplazamiento es extremo para el caso de disulfuro de carbono (30 a 40 nm) ⁽²⁷⁾.

Los carotenoides acíclicos muestran una estructura más fina que sus formas cíclicas (monocíclicos y bicíclicos). Esto es debido a que sus anillos terminales no están acoplados con la cadena principal. En el caso de carotenoides con dos grupos β -terminales, por ejemplo β -caroteno, la máxima absorción aparece como una inflexión ⁽²⁷⁾.

Los pigmentos carotenoides pueden presentar otras propiedades espectroscópicas como la fluorescencia y la absorción de energía en la región infrarroja (IR). Sin embargo, la fluorescencia es una propiedad raramente presente en los carotenoides, sólo pocos carotenoides dan fluorescencia al ser excitados con una longitud de onda apropiada ⁽²⁷⁾.

3.3.5.3 PROPIEDADES QUÍMICAS

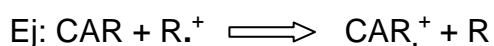
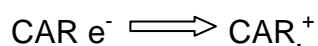
Es importante considerar las propiedades de los carotenoides y sus radicales, así como la química de sus reacciones con agentes oxidantes, como una base para valorar la factibilidad de su actividad antioxidante u otros roles químicos in vivo. Los radicales carotenoides son especies de corta vida y pueden ser generados en diferentes maneras: oxidación, reducción, abstracción de hidrógeno y adición.

3.3.5.3.1 Oxidación. Estos pigmentos se oxidan fácilmente debido a sus numerosos dobles enlaces conjugados. Estas reacciones hacen que los alimentos pierdan el color de los carotenoides ⁽²²⁾.

En presencia de oxígeno, se produce una degradación oxidativa. La tasa de oxidación depende de la presión parcial de oxígeno, actividad del agua y

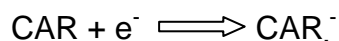
temperatura. La lesión física de los tejidos o la extracción de los carotenoides aumenta la susceptibilidad a la oxidación, y mantener los carotenoides en solventes orgánicos suele acelerar su descomposición ^(6.22).

Radicales oxidantes con alto potencial redox remueven un electrón desde la molécula del carotenoide, para dar un radical catiónico.



3.3.5.3.2 Reducción

La adición de un electrón a la molécula de carotenoide produce un radical aniónico.



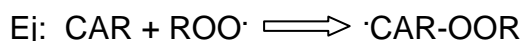
3.3.5.3.3 Abstracción de un hidrógeno

La abstracción de un hidrógeno desde un carbono saturado en posición alélica a la cadena poliénica, puede dar origen a un radical neutro con una resonancia estabilizada, por ruptura homolítica de un enlace C-H.



3.3.5.3.4 Adición

La adición de especies radicales (peróxido o hidroxilo) a la cadena poliénica genera un radical “aducto- carotenoide”.



3.3.5.3.5 Actividad antioxidante.

Los carotenos poseen una importante capacidad antioxidante ya que interaccionan con el oxígeno. En presencia de oxígeno molecular, fotosensibilizadores y luz, se puede producir oxígeno singulete que es una especie del oxígeno altamente reactiva. Es sabido que los carotenoides fijan el oxígeno singulete y, por tanto, protegen de la lesión oxidativa celular ⁽²²⁾.

3.3.5.3.6 Isomerización cis-trans

Los enlaces dobles conjugados de los carotenoides existen en configuración *cis-trans*. Las reacciones de isomerización se inducen con facilidad por tratamientos térmicos, exposición a disolventes orgánicos, contacto con algunas superficies activas por un tiempo prolongado, tratamientos con ácidos, someter a iluminación sus disoluciones (especialmente si está presente el yodo) ⁽²²⁾.

En la tabla N° 3 se resumen las propiedades físicas y químicas de los carotenoides:

Tabla N° 3. Propiedades químicas y físicas de los carotenoides ⁽⁴⁶⁾.

	Propiedades
Carotenoides	Capturan el oxígeno singulete
	Absorben luz
	Bloquean reacciones mediadas por radicales libres
	Lipofílicos, insolubles en agua
	Se unen a superficies hidrofóbicas
	Se isomerizan y oxidan fácilmente

3.3.6 PROPIEDADES BENÉFICAS DE LOS CAROTENOIDES

El ser humano no puede sintetizar carotenoides, por lo tanto, depende de la dieta alimentaria para obtener niveles suficientes de los mismos. Las frutas y verduras son la fuente primaria de carotenoides en la dieta humana y su composición ha sido asociada con beneficios a la salud ⁽³²⁾.

a) Propiedad antioxidante

Lipoproteínas de baja densidad (LDL) y carotenoides.

Las LDL son complejas moléculas con carácter lipofílico; la función de las LDL dentro del organismo humano es transportar el colesterol hacia las células utilizando una molécula asistente denominada apo B-100 (apolipoproteína B-100), la cual une a la lipoproteína con los receptores celulares, y posteriormente es introducida mediante endocitosis hasta los lisosomas, donde las enzimas rompen la molécula de LDL y liberan el colesterol, el cual será utilizado por la célula para la síntesis de su membrana, hormonas y bilis (en células hepáticas) ⁽⁵⁾.

Sin embargo, estas lipoproteínas de baja densidad pueden sufrir un proceso de oxidación. La teoría que explica el proceso de oxidación de las LDL no es clara, ésta propone que las LDL oxidadas se acumulan dentro de las paredes arteriales, las cuales entra desde el plasma y se cree que su oxidación es provocada por agentes oxidantes que se derivan de las células denominadas macrófagos, células musculares, células endoteliales y linfocitos presentes en las lesiones ateroscleróticas. Las LDL oxidadas son digeridas velozmente por los macrófagos, con lo cual la cantidad de

colesterol en las LDL sobrepasa la capacidad que poseen los macrófagos para liberar al mismo, y el colesterol se acumula dentro de las células, convirtiéndolas en lo que se denomina células esponjosas ⁽⁵⁾.

Con el tiempo, las LDL modificadas se transforman en un centro de colesterol extracelular. Es por ello que una alteración oxidativa de las LDL puede llevar al apareamiento de aterosclerosis, y sus principales consecuencias tales como la enfermedad cardíaca coronaria o isquémica, la enfermedad cerebro vascular y la enfermedad vascular arterial periférica obstructiva ⁽²³⁾.

Estudios han demostrado que existe una estrecha relación entre las lipoproteínas de baja densidad y los carotenoides, específicamente con el β -caroteno, el cual posee la capacidad de evitar que estas lipoproteínas sufran un proceso de oxidación, previniendo así la formación de placas ateroscleróticas dentro de los vasos sanguíneos. Es por ello, que los carotenoides pueden reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares y dicha reducción se asocia con un aumento en la ingesta de α -caroteno, β -caroteno y β -criptoxantina ^(20, 32).

Estudios epidemiológicos en la población europea, han mostrado una importante relación inversa entre los padecimientos coronarios y la concentración de carotenoides en plasma. De igual forma, un estudio realizado en Suiza, encontró que un nivel bajo en la concentración de carotenoides en plasma estaba asociado a una alta mortalidad por enfermedades coronarias y ataques cardíacos. Gey, et al. (1993) sugirieron

que el licopeno podría ser un importante factor contra las enfermedades cardiovasculares en las ciudades mediterráneas. En otro estudio epidemiológico prospectivo realizado en los Estados Unidos de Norte América, la concentración total de carotenoides séricos tuvo una relación inversamente proporcional respecto al padecimiento de enfermedades coronarias en pacientes que padecían de hipercolesterolemia ⁽⁶⁾.

b) Otros beneficios

De igual manera el β -caroteno, gracias a sus propiedades espectroscópicas, ha sido aprovechado para realizar estudios referentes a las estructuras de las lipoproteínas de baja densidad y registrar su interacción dentro del plasma humano ⁽³³⁾.

Los pigmentos carotenoides, presentes en frutas y vegetales, son la principal fuente de vitamina A para el ser humano; siendo el β -caroteno el principal compuesto con actividad provitamina A ⁽²⁷⁾.

Numerosos estudios epidemiológicos indican que las dietas ricas en carotenoides están relacionadas con la disminución del riesgo a desarrollar ciertos tipos de cáncer, enfermedades del corazón y otras importantes enfermedades humanas. Según Kopsell, D. (2006), los carotenoides pueden inhibir la proliferación y transformación celular, así como, la expresión modulada de genes determinantes en la prevención de ciertos tipos de cáncer y linfomas ^(27, 32).

Existen reportes que indican la disminución del riesgo a desarrollar cáncer de seno asociado a la ingesta de productos que contengan carotenoides tales como β -criptoxantina, licopeno y luteína/zeaxantina. La prevención de la degeneración macular ligada a la edad por parte de la luteína ha sido reportada en investigaciones. El estrés oxidativo es un factor importante en la enfermedad de Alzheimer, por lo que estudios han sugerido que un incremento en el consumo de antioxidantes tales como luteína, zeaxantina, y/o α - y β -caroteno en pacientes con un estado cognitivo frágil pueden ser capaces de disminuir el riesgo a desarrollar demencia ⁽⁹⁾.

El licopeno es el carotenoide más abundante encontrado en muestras séricas humanas, y por ello, uno de los más importantes en cuanto a la actividad antioxidante. Estudios han demostrado que el licopeno es el mejor secuestrante del oxígeno singulete (agente oxidante). El consumo habitual de licopeno, por medio del tomate, reduce la incidencia del cáncer en el tracto gástrico. Además Slattry et al. (2000) establecieron que, un incremento en el consumo de tomate reduce el riesgo del cáncer de colon ⁽¹⁴⁾.

La Fundación Española de la Nutrición en su informe “Carotenoides y Salud Humana” (2001), realizó una revisión acerca de las propiedades biológicas que poseen estas sustancias dentro del organismo humano, entre las cuales se destacan después de su capacidad antioxidante, disminución en el riesgo a desarrollar cataratas y degeneración macular senil, disminución de la densidad óptica y la sensibilidad visual. El aumento de la estimulación en el hiato aniónico y la estimulación del sistema inmunológico, son propiedades

de los carotenoides que han sido reportadas en otros textos. En la tabla N° 4 se resumen algunas funciones o acciones atribuidas a los carotenoides, que promueven la salud ^(6,51).

Tabla N° 4. Propiedades benéficas de los carotenoides ⁽⁴⁶⁾.

Carotenoides	Propiedades
	Actividad provitamina A
	Inhibición del cáncer
	Aumento de la inmunidad
	Prevención de enfermedades cardiovasculares
	Disminución del riesgo de formación de cataratas
	Prevención de la degeneración macular

3.4 ANÁLISIS DE CAROTENOIDES EN ALIMENTOS

3.4.1 Precauciones generales

En todo análisis, es necesario tomar en cuenta las precauciones adecuadas para obtener resultados confiables, así, el análisis de carotenoides no es la excepción. A continuación se describen los principales cuidados que se deben tener en la práctica, según Mosquera-Minguez et. al., ya que los carotenoides son altamente sensibles al oxígeno, calor, luz, ácidos y álcalis

⁽²⁷⁾.

Se debe trabajar rápido y cuidadosamente, para disminuir las posibles pérdidas por destrucción y aparición de productos de degradación. Si es posible, las muestras del extracto carotenóico deben almacenarse bajo una atmósfera inerte (argón o nitrógeno gaseoso), esto debido a que los carotenoides sufren degradación oxidativa en presencia de especies

oxidantes. Por lo anterior, ha sido recomendada la adición de sustancias antioxidantes, como el ácido ascórbico, pirogalol y BHT durante el proceso de extracción ⁽⁴⁷⁾.

Una precaución importante, es proteger la muestra de la luz, esto debido a que los carotenoides se isomerizan fácilmente por acción de dicho factor. Además, la muestra no debe someterse a excesivo calor, por ello no se recomienda el uso de solventes con un elevado punto de ebullición cuando se prevé una evaporación ⁽²⁷⁾.

La adición de ácidos sobre los carotenoides puede causar deshidratación, isomerización y descomposición. Para evitar la aparición de productos de degradación, se adicionan sustancias neutralizantes, como el bicarbonato de sodio, durante la extracción. Otras sustancias útiles para neutralizar trazas de ácidos orgánicos, son el carbonato de calcio y el magnesio. También, se evita el uso de solventes orgánicos que puedan contener trazas de ácidos ⁽²⁷⁾.

⁴⁷⁾•

La mayoría de carotenoides, son moderadamente estables a la acción de los álcalis, aunque ciertos carotenoides con grupos tipo 3-hidroxi-4oxo- β al final de la cadena hidrocarbonada, resultan sensibles a los álcalis. Así que, al realizar análisis a muestras que contengan dichos compuestos, no se deben usar sustancias alcalinas ⁽²⁷⁾.

3.4.2 Preparación de la muestra

Mosquera- Mínguez et. al. en el libro “Methods of analysis for functional foods and nutraceuticals”, recomienda para la elección de la muestra, ciertos parámetros a tomar en cuenta ⁽²⁷⁾:

1. La muestra a analizar debe ser lo mas representativa posible, con la eliminación de partes dañadas, tejidos que no contengan pigmentación o aquellos que interfieren en el análisis.
2. La muestra debe haber sido tomada recientemente y debe estar libre de daños, para asegurar que la fracción de pigmento no haya sufrido cambios.
3. Guardar la muestra en el refrigerador o en el congelador (a -30° C) para prolongar su duración. Esto se realiza si el análisis no se desarrollará inmediatamente.
4. El peso de la muestra para el análisis dependerá del contenido de carotenoide. Por ello, si el material a analizar posee alta concentración de carotenoides, se pesan generalmente de 2 a 3 g, y estos pueden aumentar a 10 g cuando el contenido de agua es elevado.

3.4.3 Elección del solvente de extracción

Ya que los alimentos contienen cierta cantidad de agua en su composición química, es necesario utilizar, para la extracción de carotenoides un solvente orgánico miscible en agua, como lo es el metanol y etanol. Como los carotenoides tienen carácter lipofílico, luego de una o dos extracciones con alguno de los solventes mencionados arriba, puede tratarse el material

vegetal con otro solvente miscible en fase oleosa, como la acetona, tetrahidrofurano, hexano, dietileter ⁽²⁷⁾.

Numerosos solventes se utilizan en la extracción de carotenoides de frutas y verduras. Los más usados son: acetona, metanol, etanol, mezclas de los anteriores y también mezclas con agua (acetona-agua, 80:20). Según Bernaldo-Rodríguez (2006), pueden utilizarse también, tetrahidrofurano (THF), pentano, cloroformo, así como, mezclas de solventes diclorometano: metanol (1:1,v/v), n-hexano:tolueno (5:4,v/v), n-hexano-acetona (6:4,v/v), n-hexano:acetona: etanol (50:25:25, v/v/v) ^(22, 47).

Luego del proceso de extracción, es recomendable homogenizar la muestra, esto puede hacerse en un mortero con arena, disgregando y homogenizando la muestra con el solvente de extracción. Esto se realiza para facilitar el contacto entre el solvente y el material a extraer. Actualmente existen homogenizadores sofisticados como el *Ultra-Turrax* o *Polytron*, éstos disgregan con mayor potencia el material vegetal ⁽²⁷⁾.

Luego de obtenido el extracto, este puede filtrarse o centrifugarse. El proceso de filtración debe repetirse hasta obtención de un filtrado transparente ⁽⁴⁷⁾.

3.4.4 Extracción

Existe gran variedad de fuentes y materiales que contienen a los carotenoides, de ahí, que no se tenga un método general o universal para su extracción; sino que depende de las características del tejido en el cual se encuentre el pigmento ⁽²⁷⁾.

Los procedimientos de extracción para la separación cuantitativa de los carotenoides de los tejidos, utilizan disolventes orgánicos que deben de penetrar en la matriz hidrófila. Comúnmente, se emplean mezclas hexano-acetona para este fin, pero a veces es necesario utilizar disolventes y tratamientos especiales para alcanzar una separación satisfactoria ⁽²²⁾.

3.4.5 Remoción de materia grasa

Si luego de la extracción existe un elevado contenido de lípidos, éstos deben eliminarse. Para ello, hay dos técnicas disponibles, las cuales son: distribución de fases y saponificación ⁽²⁷⁾.

Distribución de fases. Esta técnica es aplicable al analizar clorofilas y cuando la muestra contiene carotenoides sensibles a los álcalis. Los solventes de extracción y distribución usados son N,N-dimetilformamida y hexano. Así, la fase hexánica contendrá los carotenos y grasas, y la N,N-dimetilformamida contendrá xantofilas y clorofilas ⁽²⁷⁾.

Saponificación. Es más usada cuando no se requiere el análisis de clorofilas. Si el material a analizar posee elevado contenido de grasas esta debe removerse para evitar interferencias, esto se logra por saponificación, usando KOH-metanol 20% (p/v). Sin embargo, se han reportado pérdidas en el contenido de carotenoides totales durante la saponificación ⁽⁴⁷⁾.

3.5 Cuantificación de carotenoides

3.5.1 Determinación cuantitativa de carotenoides por espectrofotometría ultravioleta/visible.

La propiedad de los carotenoides para absorber luz en el rango UV cercano y en el visible, es utilizada para la cuantificación de los mismos en solución, por medio de la Ley de Lambert- Beer ⁽²⁷⁾:

$$A = A_{1cm}^{1\%} \times L \times C$$

Ley de Lambert- Beer

En el análisis, el problema principal cuando se aplica esta ley es conocer el valor del coeficiente de absorción específica ($A_{1cm}^{1\%}$) (ver tabla N° 5) o coeficiente de extinción molar (ϵ_{mol}) para un carotenoide dado. El coeficiente de absorción específica, representa la absorbancia teórica de la solución de 1.0 g de pigmento en 100 mL de solvente (C) medido en una celda de 1 cm de espesor ⁽²⁷⁾.

Según Mínguez-Mosquera et. al., el carotenoide o mezcla de carotenoides (en el caso de un extracto) a cuantificar se disuelve en un volumen conocido de un solvente apropiado, que normalmente es hexano, éter de petróleo ligero, acetona o etanol ⁽²⁷⁾.

La lectura del espectrofotómetro debe estar entre 0.3 y 0.7 unidades de absorbancia, para asegurar la linealidad de la medición y minimizar errores instrumentales. La medición se desarrolla usualmente a la longitud de onda de máxima absorción (450 nm) ⁽²⁷⁾.

Tabla N° 5 Coeficiente de absorción específica usados para la cuantificación de carotenoides ⁽²⁷⁾.

Carotenoide	$A_{1cm}^{1\%}$	λ (nm)	Solvente
Anteraxantina	2350	446	Etanol
Astaxantina	2100	470	Hexano
Bixina	4200	456	Petróleo ligero
Cantaxantina	2200	466	Petróleo ligero
Capsantina	2072	483	Benceno
Capsorubina	2200	489	Benceno
α -caroteno	2800	444	Petróleo ligero
β -caroteno	2592	449	Petróleo ligero
δ -caroteno	3290	456	Petróleo ligero
γ -caroteno	3100	462	Petróleo ligero
ϵ -caroteno	3120	440	Petróleo ligero
ζ -caroteno	2555	400	Hexano
Crocetina	4320	450	Petróleo ligero
α -criptoxantina	2636	445	Petróleo ligero
β -criptoxantina	2386	449	Petróleo ligero
Luteina	2550	445	Etanol
Licopeno	3450	470	Petróleo ligero
Neoxantina	2243	439	Etanol
Neurosporene	2918	440	Hexano
Fitoeno	1250	286	Petróleo ligero
Fitoflueno	1350	348	Petróleo ligero
Violaxantina	2250	440	Etanol
Zeaxantina	2348	449	Petróleo ligero

La cantidad X (mg) de un carotenoide presente en un volumen V (mL) de solución puede calcularse con la siguiente ecuación:

$$X = \left(\frac{A \times V \times 1000}{A_{1cm}^{1\%} \times 100} \right)$$

Donde:

A = Absorbancia de la muestra

V = Volumen total del extracto

$A_{1cm}^{1\%}$ = Coeficiente de absorción específica

3.6 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS FRUTAS Y HORTALIZAS ANALIZADAS.

3.6.1 Chile pimiento, variedad roja, amarilla y anaranjada.



Figura N° 4. Chile pimiento.

Nombre científico: ***Capsicum annuum var. rubrum*** (Chile pimiento rojo), ***Capsicum annuum flavum*** (Chile pimiento amarillo), ***Capsicum annuum*** (Chile anaranjado).

Nombre común o vulgar: Pimientos, Ají, Pimiento morrón, Pimientos morrones

Familia: Solanáceas.

Origen: Se considera nativo del nuevo mundo, distribuyéndose las cinco especies más importantes, en Norte, Centro y Sur América. Otros autores sostienen la teoría de la diseminación de las especies de chile del continente Americano hacia Europa y Asia. De las especies de ***Capsicum***, ***C. annuum*** es la más difundida en Centro América, siendo en su mayoría dulces con algunos cultivares picantes ⁽³⁷⁾.

Descripción botánica: Según Montes A. (1996), se puede describir como una planta perenne en sus formas silvestres, mientras que las especies cultivadas se comportan como anuales en zonas de clima templado y como perennes de corta vida en el trópico. Es una planta semileñosa, monoica,

dicotiledónea, autógama. En general, posee un tallo principal con 13 hojas, en el cual a partir del tercer nudo aparecerá la primera flor. Presenta flores pentámeras o hexámeras, de color blanco. Su fruto es una baya, compuesta por dos o más celdas. La única especie que presenta frutos no picantes es **C. annuum**. Los carotenoides como la capsantina y capsorubina se encuentran casi exclusivamente en los frutos maduros del género **Capsicum**

(19, 27, 37).

En las tablas N° 6 y N° 7 se presenta la composición nutricional del chile rojo y amarillo, que registra el INCAP (Instituto de Nutrición para Centroamérica y Panamá):

Tabla N° 6. Composición nutricional del Pimiento amarillo ⁽²⁸⁾.

Pimiento amarillo, contenido nutricional	Cantidad por gramo
Componente nutricional	
Calorías	21 Kcal
Proteínas	1.0 g
Grasa	0.21 g
Carbohidratos	6.2 g
Calcio	11 mg
Fósforo	24 mg
Hierro	0.46 mg
Tiamina	0.048 mg
Riboflavina	0.025 mg
Niacina	0.890 mg
Vit. C	183.5 mg
Carotenos totales	120 µg

Tabla N° 7. Composición nutricional del Pimiento rojo ⁽²⁸⁾.

Pimiento rojo, contenido nutricional	Cantidad por gramo
Componente nutricional	
Calorías	8 Kcal
Proteínas	0.2 g
Grasa	0.1 g
Carbohidratos	1.8 g
Calcio	1.0 mg
Fósforo	4.0 mg
Hierro	0.2 mg
Tiamina	0.01 mg
Riboflavina	0.02 mg
Niacina	0.3 mg
Vit. C	15 mg
Carotenos totales	3420.00µg

3.6.2 Jocote pitarrillo amarillo



Figura N° 5. Jocote pitarrillo amarillo.

Nombre científico: *Spondias purpurea* sp.

Origen: Es originario de Centro América, ubicándola algunos en México y actualmente por toda la América tropical. Actualmente se encuentra diseminado por el Caribe y América Tropical. En El Salvador, se encuentra ampliamente distribuido en huertos de traspatio.

Descripción botánica: Es un árbol pequeño, que crece de 4-8 m, con una amplia copa, tronco irregular y ramas frágiles. Sus hojas están compuestas de 5 a 12 pares de folíolos elípticos, de 2-4 cm de largo, y que caen antes de la floración. Las flores rojas (masculinas, femeninas y hermafroditas) se agrupan en panículas de 3-5 cm, situadas a lo largo de las ramillas más pequeñas. Cáliz con 4-5 segmentos diminutos, pétalos 4-5, oblongos. El fruto de esta variedad, presenta potencial para procesamiento y transformación en almíbares, jaleas y mermeladas por su tamaño y contenido de pulpa. Se caracteriza por su color amarillo-anaranjado y su sabor dulce cuando maduro, el fruto de forma alargada destacándose por su alto contenido de hierro no es muy consistente al transporte ⁽⁴¹⁾.

En la tabla N° 8 se presenta la composición nutricional del jocote pitarrillo amarillo, investigada por el INCAP:

Tabla N° 8. Composición nutricional del Jocote pitarrillo amarillo ⁽²⁸⁾.

Jocote ciruelo, contenido nutricional	Cantidad por gramo
Componente nutricional	
Calorías	12 Kcal
Proteínas	0.2 g
Grasa	0.0 g
Carbohidratos	3.3 g
Calcio	3 mg
Fósforo	6 mg
Hierro	0.1 mg
Tiamina	0.1 mg
Riboflavina	00.0 mg
Niacina	0.2 mg
Vit. C	7 mg
Carotenos totales	70.0-71.0 mg

3.6.3 Maracuyá



Figura N° 6. Maracuyá.

Nombre científico: ***Passiflora edulis f. flavicarpa***

Nombres comunes: El maracuyá se conoce con diferentes nombres en otros idiomas. En español se le llama parchita maracuyá, en inglés se le nombra yellow passion-fruit. Así como, en portugués: Maracuja ⁽⁴⁾.

Familia: Passifloraceae

Origen: Se considera que el centro de origen es Brasil, específicamente la región del Amazonas. Se cultiva intensamente en Hawaii, Australia, Venezuela y otros. La especie ***Passiflora edulis Sims*** (maracuyá morado), dio origen, a través de una mutación, a ***Passiflora edulis*** forma flavicarpa (maracuyá amarillo). Estas especies, además de diferenciarse por su color, varían por la producción de jugo, acidez, productividad y resistencia al ataque de hongos. La forma flavicarpa, se muestra superior en todos los aspectos ⁽⁴⁾.

Descripción botánica: La pasionaria es una planta trepadora. Su tallo es rígido y leñoso, cilíndrico o ligeramente anguloso cuando joven, liso, de color verde claro o verde oscuro provistos de zarcillos axilares, redondo, enrollado en forma de espiral, de 20-40 cm de largo. Presenta hojas alternas de gran tamaño, perennes lisas y trilobuladas, de color verde oscuro en el lado superior, de 8-16 cm de largo. Las raíces, como es habitual en las trepadoras, son superficiales ⁽⁴⁾.

La flor se presenta individualmente; puede alcanzar los cinco centímetros de diámetro en las variedades silvestres, y hasta el doble en las seleccionadas por su valor ornamental. Son flores entomófilas, axilares, hermafroditas, de unos 5 cm de diámetro. Es normalmente blanca, con tintes rosáceos o rojizos, en ***P. edulis***; otras especies presentan colores que van desde el rojo intenso hasta el azul pálido ⁽⁴⁾.

Los frutos son bayas, globosos u ovoides, de entre 4 y 10 cm de diámetro, con la base y el ápice redondeado, de color amarillo, corteza dura y de

pericarpio poco grueso pero incomedible. La pulpa contiene numerosas semillas violeta oscuro y pequeñas, cada una de las cuales está rodeada de una membrana mucilaginoso (arilo) que contiene un jugo aromático ⁽⁴⁾.

En la tabla N°9 se presenta la composición nutricional del maracuyá, que fue investigada por el INCAP y el Registro Nacional de Nutrición de Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés):

Tabla N° 9. Composición nutricional del Maracuyá ^(28, 52).

Maracuyá, contenido nutricional	
Componente nutricional	Cantidad por gramo
Calorías	51.0 Kcal
Proteínas	0.39 g
Grasa	0.05 g
Carbohidratos	13.60 g
Calcio	4 mg
Fósforo	13 mg
Hierro	0.24 mg
Tiamina	00.0 mg
Riboflavina	0.13 mg
Niacina	1.46 mg
Vit.C	30.0 mg
Carotenos totales	743 µg *(β-caroteno)

3.6.4 Mamey



Figura N° 7. Mamey.

Nombre científico: ***Mammea americana***

Nombres comunes: Mamey, mamey dominicano, zapote mamey. En inglés: Mamey, apricot of San Domingo, mamey apple ⁽⁴⁾.

Familia: Guttiferae

Origen: Es nativo del norte de América del Sur y de las Indias Occidentales. El mamey es uno de los principales frutales indígenas ⁽⁴⁾.

Descripción botánica: Árbol mediano o grande, 15-25 m de altura, el tronco erecto, con la copa densa y amplia. Hojas opuestas, oblongo elípticas, de 10-15 cm de largo, 5-10 cm de ancho, ápice obtuso o redondeado y base obtusa hasta aguda, coriáceas, toda la hoja con glándulas pelúcidas entre las nervaduras, pecíolo, 1.0-1.5 cm de largo. Inflorescencias axilares que nacen en las axilas de las hojas suficientemente viejas en madera dura, sésiles, 1-3 flores polígamas, pedicelo 10-15 mm de largo. Fruto subgloboso, 10-15 cm de diámetro, exocarpo grueso y de color pardo y superficie rugosa, mesocarpo amarillo o rojizo, duro, algo azucarado, aromático, comestible. Semillas en número variable, de 1 a 4, en posiciones radiales y grandes. No son conocidas variedades de mamey, no obstante, se presentan plantas unisexuales masculinas, unisexuales femeninas y caso raro hermafroditas ⁽⁴⁾.

En la tabla N° 10 se presenta la composición nutricional del mamey de acuerdo al INCAP y Rodríguez-Amaya:

Tabla N° 10. Composición nutricional del Mamey ^(28, 52).

Mamey, contenido nutricional	Cantidad por gramo
Componente nutricional	
Calorías	160 Kcal
Proteínas	2.0 g
Grasa	0.7 g
Carbohidratos	41.3 g
Calcio	44 mg
Fósforo	41 mg
Hierro	1.4 mg
Tiamina	0.10 mg
Riboflavina	0.17 mg
Niacina	1.4 mg
Vit. C	55 mg
Carotenos totales	14 µg

3.6.5 Mango



Figura N° 8. Mango.

Nombre científico: ***Mangífera indica sp.***

Nombres comunes: Tanto en inglés como en castellano, se conoce como mango, y en portugués como, manga ⁽⁴⁾.

Familia: Anacardiaceae

Origen: Es originario de la región que comprende la India, Bangladesh, el Sudeste de Asia y las Filipinas. Los principales productores son India, Pakistán, Indonesia, Tailandia, México, Haití, Filipinas, Puerto Rico, Burkina Faso, Kenia, Sudáfrica, Perú, Venezuela, Brasil, Cuba, Nigeria y Egipto. El mango llegó a América por dos vías: los españoles los trajeron de Filipinas a México, de donde se extendió por el Caribe; los portugueses de India a Brasil ^(4,38).

Existen más de 300 variedades comerciales en el mundo. En El Salvador se recomiendan variedades mejoradas como Tommy Atkins, (con características de buena fructificación, alta capacidad productiva, resistencia a enfermedades, pulpa firme y semilla pequeña). Existen cultivares de mango ciruela, panadés y otros criollos con potencial de agroindustrialización ⁽³⁸⁾.

Descripción botánica: Árbol de tamaño mediano de 10 a 30 m de altura tronco más o menos recto, de corteza color gris-café, con grietas longitudinales o surcos reticulados poco profundos que a veces contienen pequeñas gotas de resina. Las ramitas son gruesas y robustas, frecuentemente en grupos alternos de entrenudos largos y cortos que corresponden al principio y a las partes posteriores de cada renuevo o crecimientos sucesivos. Hojas alternas, simples, coriáceas, de lanceoladas a oblongas, de 15-30 cm de longitud, de color verde oscuro. Inflorescencias piramidales terminales. Flores polígamas de pequeño tamaño de color verde amarillento, con 4-5 sépalos y pétalos. Flores masculinas con 4-5 estambres,

de los cuales sólo 1 ó 2 son fértiles y de mayor tamaño. Flores femeninas con ovario globoso y un estilo ⁽⁴⁾.

Fruto drupáceo variable en forma y dimensiones, aunque por norma general es ovoide-oblonga, con los extremos algo aplanados, desde 4 a 25 cm de longitud y de color verde, verde amarillento o anaranjado en la madurez, incluso con tintes morados o rojos en algunas variedades. La pulpa del fruto es amarilla o naranja y jugosa, con fibrosidades, salvo en las variedades mejoradas. La semilla es aplanada, cubierta por la testa y el tegumento y constituida en su mayor parte por los cotiledones. No contiene endosperma ^(3,4). El mango, posee una riqueza vitamínica muy elevada, siendo en algunas variedades el contenido de vitamina A y C superior a la naranja. Así como también, posee diferentes carotenoides, siendo los predominantes, la β -criptoxantina y zeaxantina. La tabla N° 11 contiene la composición nutricional del mango investigada por el INCAP ^(19,27):

Tabla N° 11. Composición nutricional del Mango ⁽²⁸⁾.

Mango, contenido nutricional	Cantidad por gramo
Componente nutricional	
Calorías	46 Kcal
Proteínas	0.4 g
Grasa	0.2 g
Carbohidratos	12 g
Calcio	9 mg
Fósforo	9 mg
Hierro	0.6 mg
Tiamina	0.4 mg
Riboflavina	0.5 mg
Niacina	0.3 mg
Vit. C	41 mg
Carotenos totales	1800.00 μ g

3.6.6 Maíz dulce



Figura N° 9. Maíz dulce.

Nombre científico: ***Zea mays var. Rugosa*** o también conocido como, ***Zea mays var. Sacharata***.

Nombre común: Maíz dulce, elote.

Familia: Graminaceae

Origen: El maíz se originó en Los Andes, en la región sur del Perú, donde se han encontrado formas primitivas de maíz. Durante ese tiempo, no existió maíz en el resto de América, pero si se reporta la presencia de una especie pariente de maíz, llamada “Tripsacum”. El maíz obtenido en Perú, al viajar hacia el norte, se cruzó con ***tripsacum***, dando origen a un híbrido conocido con el nombre de “Teosinte”. Al cruzarse teosinte con maíz primitivo, aparecieron diversas clases de maíces: Maíz reventón, maíz dentado, etc. Así fue, como se desarrollaron las formas de maíces existentes en Centro y Norte América. La selección de maíz dulce, sólo llegó a ser importante

después de la llegada de Colón, cuando los colonizadores, se interesaron en este tipo de maíz y su cultivo ⁽³⁷⁾.

Descripción botánica: Es una planta monoica, anual, monocotiledónea, herbácea, que se diferencia de los maíces corrientes por su contenido de azúcar, el cual se debe a un sólo gen. Su sistema radicular es mayormente adventicio con numerosos pelos absorbentes, constituyendo una gran cabellera que ocupa los primeros 30 cm del suelo. El tallo es de largo variable, según el cultivar, es de 3-4 cm de diámetro, con varios nudos. Las hojas son alternas, variables con el cultivar, abrazadores, envolviendo los entrenudos, de superficies pubescentes, lineales, lanceoladas y acuminadas, márgenes ondulados. Flores unisexuales. Flor femenina, la constituye un panículo terminal denominado panoja, formada por floretes con 3 estambres, 2 anteras y un pistilo rudimentario. La flor femenina constituye la mazorca. Los frutos, llamados “cariópside”, vienen a constituir los granos de la mazorca. La semilla del maíz dulce está formada por el fruto maduro y seco con un solo embrión, se presenta arrugada y a veces traslúcida. Las tres principales variedades de maíz dulce son la tradicional (*su*), extradulce (*se*), y *shrunken-2* (*sh2*). Estas variedades varían en dulzura, mantenimiento de la calidad aun después de la cosecha y vigor en suelos fríos ^(26,37).

Los carotenoides predominantes encontrados en el maíz, son la luteína y la zeaxantina. En la tabla N° 12, puede observarse la composición nutricional del maíz dulce por investigación del INCAP y la Organización de las

Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, por sus siglas en inglés) ⁽²¹⁾:

Tabla N° 12. Composición nutricional del Maíz dulce ^(28, 21).

Maíz dulce, contenido nutricional	Cantidad por gramo
Componente nutricional	
Calorías	86 Kcal
Proteínas	3.22 g
Grasa	1.18 g
Carbohidratos	19.02 g
Calcio	2.00 mg
Fósforo	89.00 mg
Hierro	0.52 mg
Tiamina	0.20 mg
Riboflavina	0.06 mg
Niacina	7.00 mg
Vit. C	1.70 mg
Carotenos totales	11.3µg (β-caroteno)*

3.6.7 Papaya



Figura N° 10. Papaya.

Nombre científico: ***Carica papaya***

Nombres comunes: Papaya, lechosa, fruta bomba.

Familia: Caricaceae

Origen: La papaya es nativa de América Central. Se cultiva extensamente en todos los trópicos y los sub-trópicos más cálidos. Está distribuida en su mayor parte en el área del Caribe, después que fue descubierta por los exploradores españoles en Panamá y el noroeste de América del Sur. En la actualidad es ampliamente cultivada en diferentes regiones como Hawái, Australia y Sudáfrica ^(4,24).

Descripción botánica: Es una planta herbácea, de crecimiento rápido, de tallo delgado, erecto, sencillo o algunas veces ramificado por daños, algo flexible, de 2-10 metros de altura, cilíndrico, suave, esponjoso-fibroso, hueco, de color gris o café grisáceo, de 10-30 cm de diámetro y endurecido por la presencia de cicatrices grandes y prominentes producidas por la caída de hojas e inflorescencias. Posee hojas abroqueladas con pecíolos huecos, cilíndricos cerca del limbo y algo achatados en el punto de unión con el tronco. Las hojas caen a medida va creciendo el árbol, dejando cicatrices en la corteza ^(4,24).

Las inflorescencias son axilares, colgantes y bracteales. El comportamiento sexual del papayo es singular, observándose a veces cambio de sexos de las plantas, inducidos por los factores climáticos. El fruto es una baya ovoide-oblonga, piriforme o casi cilíndrica, grande, carnosa y jugosa. Ya maduro tiene consistencia suave y una coloración anaranjado amarillo en su exocarpo y de color anaranjado o rojizo en la pulpa. Las semillas son de color negro, ovoides, encerradas en un arilo transparente, algunas de ellas unidas al endocarpo ^(4,24).

A continuación se presenta la composición nutricional de la papaya de acuerdo al INCAP y el USDA:

Tabla N° 13. Composición nutricional de la Papaya ^(28, 52).

Papaya, contenido nutricional	Cantidad por gramo
Componente nutricional	
Calorías	25 Kcal
Proteínas	0.1 g
Grasa	0.4 g
Carbohidratos	6.4 g
Calcio	15 mg
Fósforo	10 mg
Hierro	0.3 mg
Tiamina	0.02 mg
Riboflavina	0.3 mg
Niacina	0.2 mg
Vit. C	35 mg
Carotenos totales	276 µg

3.6.8 Zanahoria



Figura N° 11. Zanahoria.

Nombre científico: ***Daucus carota sp.***

Familia: Umbelíferas (Umbelliferae).

Origen: Se cree nativa de Afganistán y áreas adyacentes. Muchas especies silvestres han sido encontradas en Asia. La zanahoria común, llamada del

Mediterráneo, por haberse conocido por muchos años en esta área, posiblemente llegó del Asia menor ⁽³⁶⁾.

Descripción botánica: Es una planta herbácea, dicotiledónea, bi-anual, cuya parte comestible es la resultante de un hipocótilo agrandado y una prominente raíz pivotante, los cuales en conjunto constituyen la raíz reservoria de la zanahoria. La forma silvestre de zanahoria, se comporta como anual, mientras que la forma cultivada es bienal ⁽³⁶⁾.

La zanahoria, es una raíz gruesa y alargada, generalmente cónica, su tamaño varía de 6 a 30 cm. El color rojizo amarillento de su piel es el mismo para su carne y la calidad del fruto se distingue según sea el volumen del corazón interior que va desde las hojas hasta la base. Las hojas son compuestas. La inflorescencia es una umbela compuesta por dos flores perfectas. La flor es pentámera ^(19,37).

Como se observa en la tabla N° 14, la zanahoria contiene una cantidad significativa de carotenos, según resultados del INCAP:

Tabla N° 14. Composición nutricional de la Zanahoria ⁽²⁸⁾.

Zanahoria, contenido nutricional	Cantidad por gramo
Componente nutricional	
Calorías	27 Kcal
Proteínas	0.6 g
Grasa	0.1 g
Carbohidratos	6.2 g
Calcio	21 mg
Fósforo	18 mg
Hierro	0.4 mg
Tiamina	0.03 mg
Riboflavina	0.03 mg
Niacina	0.4 mg
Vit. C	4 mg
Carotenos totales	12000.00 µg

CAPÍTULO IV
DISEÑO METODOLÓGICO

4.0 DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 Tipo de estudio:

Bibliográfico: Se realizó con base a la revisión de documentos, manuales, revistas, periódicos, actas científicas y/u otro tipo de publicación considerada como fuente de información científica ⁽⁴⁹⁾.

Experimental: Se efectuó mediante la manipulación de una variable experimental no comprobada, en condiciones reguladas, con el fin de describir de que manera o por qué causa se produce una situación o acontecimiento en particular ⁽⁵⁰⁾.

En el experimento se manejó de manera deliberada la variable experimental y luego se observó lo que ocurría en condiciones controladas ⁽⁵⁰⁾.

4.2 Investigación bibliográfica

Se realizó por medio de visitas a las siguientes bibliotecas:

- Central de la Universidad de El Salvador (UES).
- “Dr. Benjamín Orozco” de la Facultad de Química y Farmacia (UES).
- Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad de El Salvador.
- Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM).
- Universidad Centroamericana “José Simeón Cañas” (UCA).
- Universidad Nueva San Salvador (UNSSA).

- Centro de documentaciones de la Asociación de Promotores Comunales Salvadoreños, APROCSAL.
- Biblioteca personal.

4.3 Investigación de campo.

Se realizaron visitas a los siguientes supermercados y mercados de la Zona Metropolitana de San Salvador:

- Super Selectos Metrocentro.
- Super Selectos San Luis.
- Super Selectos 29 Calle Poniente.
- Despensa de Don Juan, Boulevard de Los Héroes.
- Mercado Barrio San Miguelito.
- Mercado Central de San Salvador.
- Mercado La Tiendona.

Del listado anterior se seleccionaron los establecimientos que tenían a la venta las especies vegetales en estudio. Los lugares donde se adquirieron las muestras fueron:

- Mercado Central de San Salvador
- Super Selectos San Luis

- Mercado San Miguelito
- Despensa de Don Juan, Boulevard de Los Héroes

Para la selección de las muestras se tomaron en cuenta ciertas características, que se mencionan a continuación: Debe ser lo más representativa posible en cuanto a su coloración, con la eliminación de partes dañadas; de una madurez homogénea y ausencia aparente de clorofila ^(27,39).

Universo: Frutas y verduras comercializadas en la Zona Metropolitana de San Salvador.

Muestra: Del universo de las frutas y verduras se tomaron como muestra ocho especies y de una de estas se incluyen tres de sus variedades, las cuales se nombran a continuación:

Capsicum annuum var. rubrum (chile rojo).

Capsicum annuum var. flavum (chile amarillo).

Capsicum annuum (chile anaranjado).

Siete especies de una variedad:

Spondias purpúrea sp. (jocote pitarrillo amarillo).

Passiflora edulis f. flavicarpa (maracuyá).

Mammea americana (mamey).

Mangífera indica sp. (mango).

Zea mays var. rugosa (maíz dulce).

Carica papaya (papaya).

Daucus carota sp. (zanahoria).

Diseño muestral: No probabilístico, ya que no sigue el proceso aleatorio y aquí el investigador decide, según sus objetivos, los elementos que integrarán la muestra ⁽¹²⁾.

4.4 Investigación experimental

La parte experimental, consistió de las siguientes etapas:

- Preparación de las muestras para el análisis: Las frutas y verduras se enjuagaron con suficiente agua, para eliminar residuos de tierra y partículas indeseables en la superficie de la muestra, que pudiesen interferir en el análisis.

Cada muestra se partió en pequeños trozos y se trituró previo a su análisis (Ver anexo N° 2).

- Determinación de humedad para efectos de comparación de resultados en base seca y base húmeda. Se empleó el método oficial de la AOAC 17^a edición, 920.151, Sólidos totales en frutos y productos de frutas.
- Obtención de tres extractos orgánicos, por cada especie vegetal (cada uno de ellos se trabajó por duplicado).

- Obtención de los espectros UV/VIS. Se empleó el espectrofotómetro UV/VIS Lambda 35 Perkin Elmer. Los espectros UV/VIS se determinaron a partir de los extractos obtenidos para la cuantificación de carotenoides totales.
- Determinación cuantitativa de carotenoides totales. Para lo cual, se empleó el método espectrofotométrico a 470 nm (Talcott y Howard, 1999), descrito por Campos, D. et. al. ⁽¹¹⁾.

4.4.1 Análisis estadístico

A los resultados obtenidos se les realizó un análisis de varianza ($p < 0.05$) utilizando el programa Minitab versión 15.0 para Windows®. Para determinar diferencias significativas en el contenido de carotenoides totales cuantificados ⁽¹¹⁾.

Planteamiento de la hipótesis

- Hipótesis alternativa (H_1): Existencia de diferencias significativas entre el contenido de carotenoides totales cuantificados en los diversos frutos y vegetales evaluados.
- Hipótesis nula (H_0): No existencia de diferencias significativas entre el contenido de carotenoides totales cuantificados en los diversos frutos y vegetales evaluados.

4.4.2 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

Sólidos totales en frutas y productos de frutos para materia insoluble presente (Método oficial de la AOAC 920.151) ⁽²⁾.

Material y equipo (Ver anexo N° 3).

Procedimiento (Ver anexo N° 4)

1. Después de preparada la muestra, pesar cuidadosamente dentro de la cápsula de porcelana previamente tarada, 20.0 g de pulpa de fruta fresca.
2. Añadir, si es necesario para asegurar una capa fina de material vegetal, unos pocos mililitros de agua y mezclar vigorosamente.
3. Secar a $70 \pm 2^\circ\text{C}$ el material vegetal, a intervalos de 2 horas, hasta que la variación del peso sea ≤ 3 mg.
4. Sacar la muestra del horno y dejar enfriar en un desecador.
5. Calcular el contenido de humedad como el peso perdido de la muestra durante el secado, utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de humedad de la muestra} = \frac{\text{CM} - \text{CMS}}{\text{PM}} \times 100$$

En donde:

CM = Peso en gramos de la cápsula con muestra húmeda

CMS = Peso en gramos de la cápsula con muestra seca

PM = Peso de la muestra en gramos

% de materia seca = $100 - \% \text{ de humedad}$

4.4.3 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE CAROTENOIDES TOTALES ⁽¹¹⁾.

Materiales y equipo (ver anexo N° 3).

Procedimiento:

1. Luego de preparada a muestra, pesar 2.0 g de material vegetal.
2. Homogenizar una solución que contiene 2.0 g de muestra con 20.0 mL de una mezcla de acetona –etanol (1:1). Dejar reposar por 24 horas a $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$.
3. Filtrar la solución anterior al vacío, empleando embudo Buschner, utilizando papel filtro Whatman poro grueso.
4. Transferir el filtrado a un balón volumétrico de 100.0 mL y llevar a volumen con solvente para carotenoides (acetona- etanol).
5. Transferir la solución a una ampolla de separación; adicionar 50.0 mL de hexano y 25.0 mL de agua; agitar vigorosamente.
6. Dejar reposar por 30 min para que se dé la separación de fases.
7. Calibrar el espectrofotómetro utilizando hexano como blanco.
8. Medir las absorbancias de la fase orgánica, empleando una longitud de onda de 470 nm.
9. Expresar los resultados, como μg de β -caroteno equivalente/100 g, empleando el coeficiente de extinción molar de 2500 del β -caroteno y aplicar la siguiente ecuación:

$$\mu\text{g de } \beta\text{-caroteno equiv} / 100\text{g} = \left(\frac{A \times V \times 10^6}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times 100 \times Pmx(\text{g})} \right)$$

Donde:

A= Absorbancia de la muestra

V= Volumen total del extracto

$A_{1\text{cm}}^{1\%}$ = Coeficiente de absortividad del β -caroteno (2500)

Pmx = Peso de muestra en gramos

En el anexo N° 5 se muestra la secuencia fotográfica del procedimiento para determinación de carotenoides totales.

CAPÍTULO V

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS E INTERPRETACION DE RESULTADOS

5.1 Obtención de extractos orgánicos de las ocho especies en estudio y tres variedades de una especie.

Características de los extractos:

Debido a la presencia de agua en la matriz biológica, las muestras vegetales fueron extraídas inicialmente utilizando una mezcla de acetona-etanol. Posteriormente, se utilizó hexano para la extracción de carotenoides en dicho solvente, por la naturaleza lipofílica de los mismos. Al transcurrir unos minutos luego de agregado el hexano, se observó la separación de fases, quedando la fase orgánica coloreada y que contiene los carotenoides sobre la acuosa.

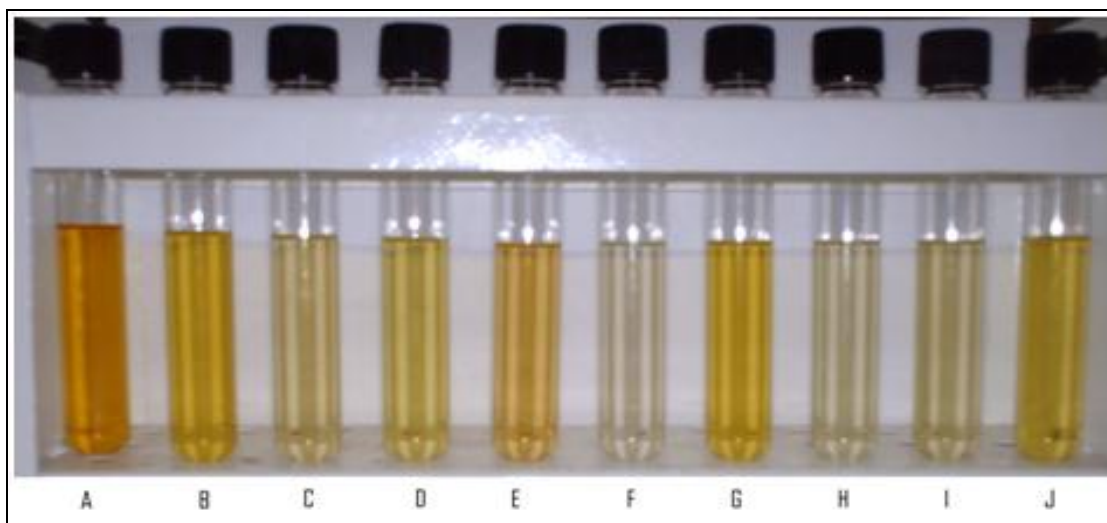


Figura N° 12. Extractos vegetales de: chile rojo (A), chile anaranjado (B), chile amarillo(C), mamey (D), papaya (E), maíz dulce (F), zanahoria (G), maracuyá (H), mango (I), jocote pitarrillo amarillo (J).

En general, la gama de colores observados en los extractos obtenidos es variable, cambiando de anaranjado hasta amarillo tenue. Tal como se muestra en la figura N° 12. La variedad de chile rojo (A) tuvo la coloración

más intensa (anaranjado) y la especie con menor intensidad de color fue el maíz dulce (F) (amarillo tenue).

Según el estudio realizado por Khachik y otros (1991) las frutas y verduras pueden ser clasificadas en dos grandes grupos a partir del color que presentan, frutas y verduras amarillas y rojas, frutas y verduras amarillas y anaranjadas. Los carotenoides asociados a estos colores se muestran en la tabla N°15.

Tabla N° 15 Colores de carotenoides comunes en alimentos color amarillo, rojo y anaranjado.

Carotenoide	Color
ζ -caroteno	Anaranjado
α-caroteno	
β-caroteno	
violaxantina bislaurato	
β-criptoxantina	
β-criptoxantina 5,6-epóxido	
Zeaxantina	
Zeaxantina	Amarillo
ξ-caroteno	
Luteína	
Violaxantina	
α-caroteno	Rojo
licopeno	
γ-caroteno	
Astaxantina	
Capsantina	

Para el presente estudio se trabajó con muestras que en su mayor parte presentaron color amarillo, por lo que se presume una mayor concentración de carotenoides tales como la zeaxantina, ξ-caroteno, luteína, α-caroteno y violaxantina en estas muestras, y espectros de absorción similares. En el caso de la especie de ***Capsicum annuum var. rubrum*** (chile rojo) el

licopeno, γ -caroteno, astaxantina y capsantina son los carotenoides a los cuales se les pretendió comprobar su presencia en esta especie.

5.2 Obtención de los espectros de absorción UV/VIS de los extractos orgánicos.

La tabla N°16 contiene las longitudes de onda máximas obtenidas a partir de los extractos vegetales de las diferentes especies en estudio. Las columnas corresponden a los tres picos o bandas características.

Tabla N° 16. Absorción máxima de los carotenoides para el espectro visible usando hexano como solvente.

Fruta o verdura analizada	Absorción máxima (λ_{\max} nm)		
	Pico I	Pico II	Pico III
Chile rojo	-----	450.88	470.16
Chile anaranjado	-----	448.12	474.98
Chile amarillo	421.95	441.92	469.81
Mamey	420.80	433.74	467.83
Papaya	445.02	470.85	501.15
Maíz dulce	422.00	445.37	473.26
Zanahoria	426.77	449.15	476.01
Maracuyá	399.97	424.94	466.83
Mango	418.05	439.86	468.84
Jocote pitarrillo amarillo	----	445.11	467.83

Los valores de longitud de onda máxima, en los diez espectros de absorción UV/VIS de las especies vegetales analizadas, se encuentran en un rango de 399.97-501.15 nm; el espectro visible de los carotenoides es bastante característico en el rango de 400-500 nm, por lo cual suelen ser sustancias coloreadas. Se observa un máximo alrededor de 450 nm y generalmente se aprecian dos máximos u hombros a cada lado ⁽³⁵⁾.

A continuación, se muestran los espectros de absorción de carotenoides totales obtenidos a partir de las especies vegetales analizadas.

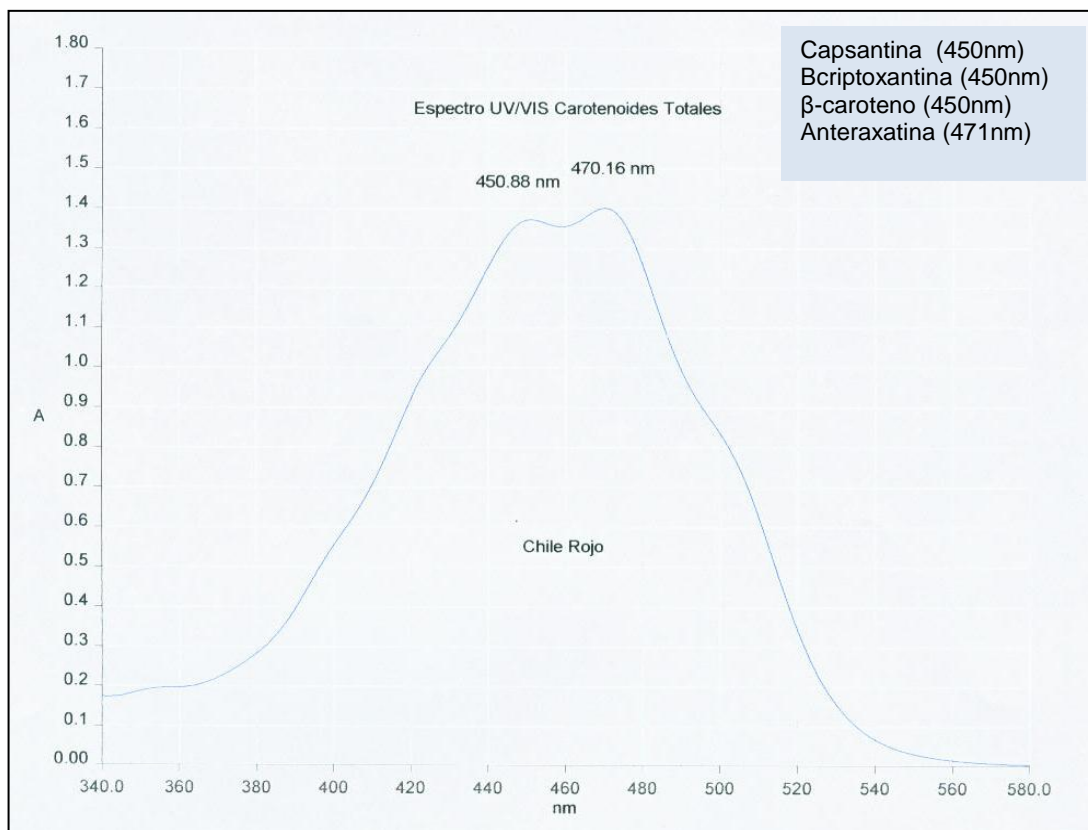


Figura N° 13. Espectro de absorción UV/VIS del contenido de carotenoides totales en el chile rojo.

Los máximos encontrados en el espectro de absorción VIS del chile rojo se encuentran en 450.88 y 470.16 nm, como se muestra en la figura N° 13. Carotenoides contenidos en el chile rojo, como la capsantina, la β-criptoxantina y el β-caroteno absorben a una longitud de onda máxima de 450 nm utilizando como medio de extracción petrolato líquido para la capsantina y etanol en β-criptoxantina y β-caroteno ^(27,46). Mientras que la anteraxantina muestra una absorción máxima en 471 nm extraída en etanol o petrolato líquido.

Por lo que al realizar una comparación entre las longitudes de onda teóricas y las obtenidas experimentalmente, puede inferirse que la capsantina, β-

criptoxantina, β -caroteno, y la anteraxantina son carotenoides que podrían estar presentes en las muestras de chile rojo analizadas. Teniendo en cuenta siempre que el solvente de extracción utilizado experimentalmente difiere al reportado en la teoría.

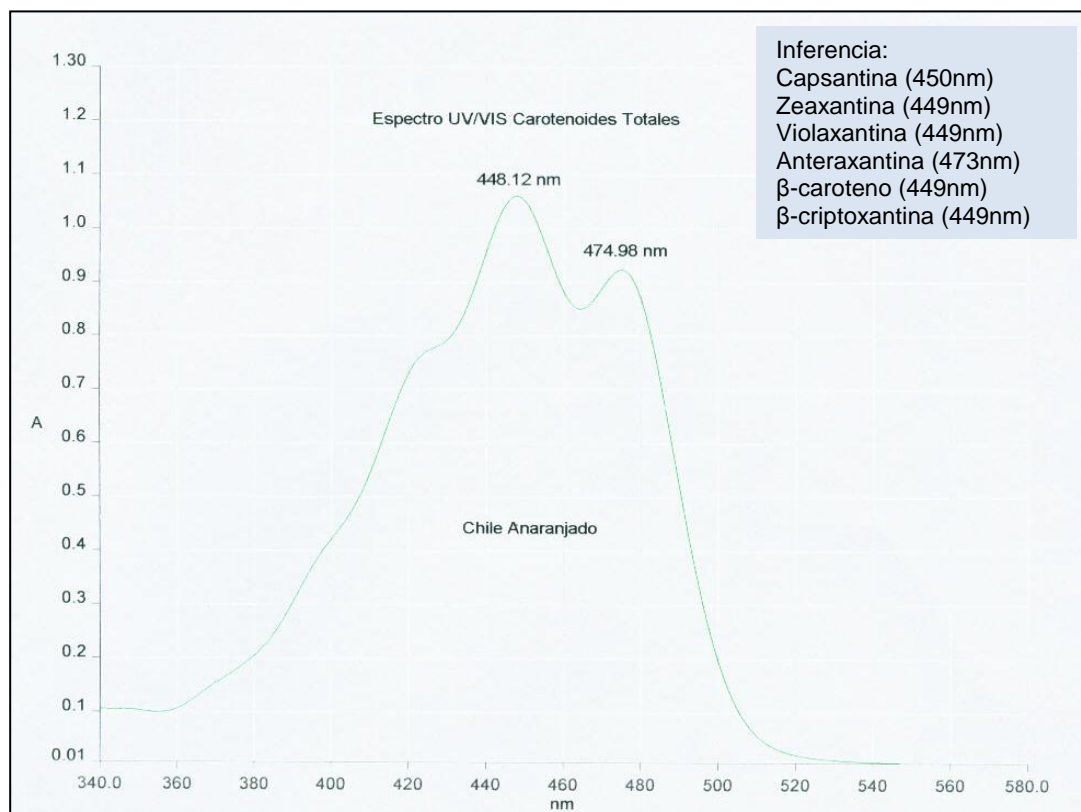


Figura N° 14. Espectro de absorción UV/VIS del contenido de carotenoides totales en el chile anaranjado.

Las longitudes de onda máxima registradas para el extracto de chile anaranjado son: 448.12 y 474.96 nm. Los carotenoides que presentan longitudes de onda cercanas a las obtenidas experimentalmente se muestran en la tabla N° 17.

Tabla N° 17. Longitudes de onda de ciertos carotenoides ⁽²⁷⁾.

Carotenoide	Longitud de onda máxima	Solvente
Violaxantina	424 nm, 449 nm	Petrolato líquido
Zeaxantina	449 nm	Petrolato líquido
β -criptoxantina	449 nm	Etanol
B-caroteno	449 nm	Petrolato líquido
Capsantina	475 nm	Petrolato líquido

En general los solventes de baja polaridad poseen muy poco efecto en la posición de absorción máxima, por lo que para un carotenoide dado, los valores de absorción máxima serán en su mayoría idénticos tanto en hexano, petrolato líquido, dietileter, metanol y etanol. Aún así siempre hay que considerar una pequeña variación entre los datos obtenidos experimentalmente y los reportados en otras investigaciones, por lo que es posible sugerir que la capsantina, zeaxantina, violaxantina, β -caroteno y β -criptoxantina son carotenoides presentes en el chile anaranjado aún cuando los valores de sus longitudes de onda máxima experimentales no sean exactamente iguales a los teóricos ⁽²⁶⁾.

Para el extracto de chile amarillo, como se observa en la siguiente figura, las longitudes de onda máxima reportadas son: 421.95, 441.92 y 469.81 nm. Los carotenoides que presentan longitudes de onda aproximadas son los siguientes: luteína 422 nm, luteoxantina 420 nm y violaxantina 470 nm, utilizando como solvente de extracción para cada uno, etanol ⁽²⁷⁾.

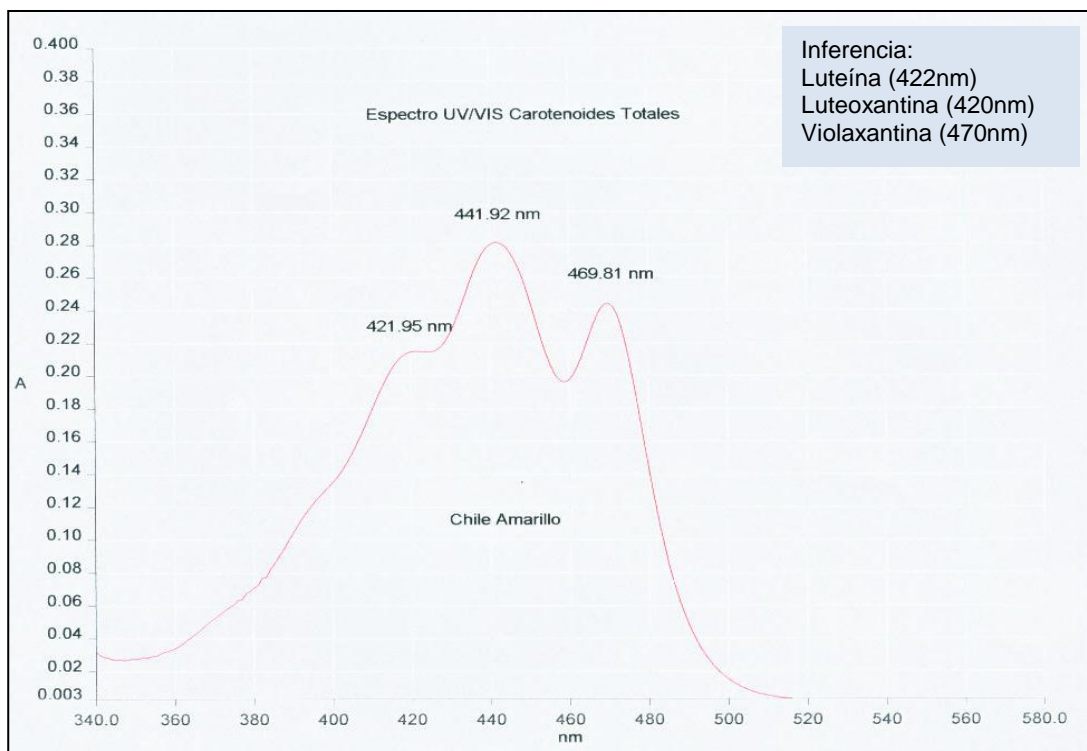


Figura N° 15. Espectro de absorción UV/VIS del contenido de carotenoides totales en el chile amarillo.

Al no encontrar reportes de un carotenoide específico que absorba a una longitud de onda de 441.92 nm, es necesario considerar la posibilidad de un enmascaramiento debido principalmente a que se trabajó con extractos que contenían una mezcla de carotenoides y no carotenoides aislados, lo que también causa que las longitudes de onda máxima para un carotenoide dado no coincidan en un cien por ciento con los encontrados en las referencias bibliográficas. Para el caso de la variedad de chile amarillo la luteína, luteoxantina y violaxantina son carotenoides que se asume se encuentran en la muestra estudiada.

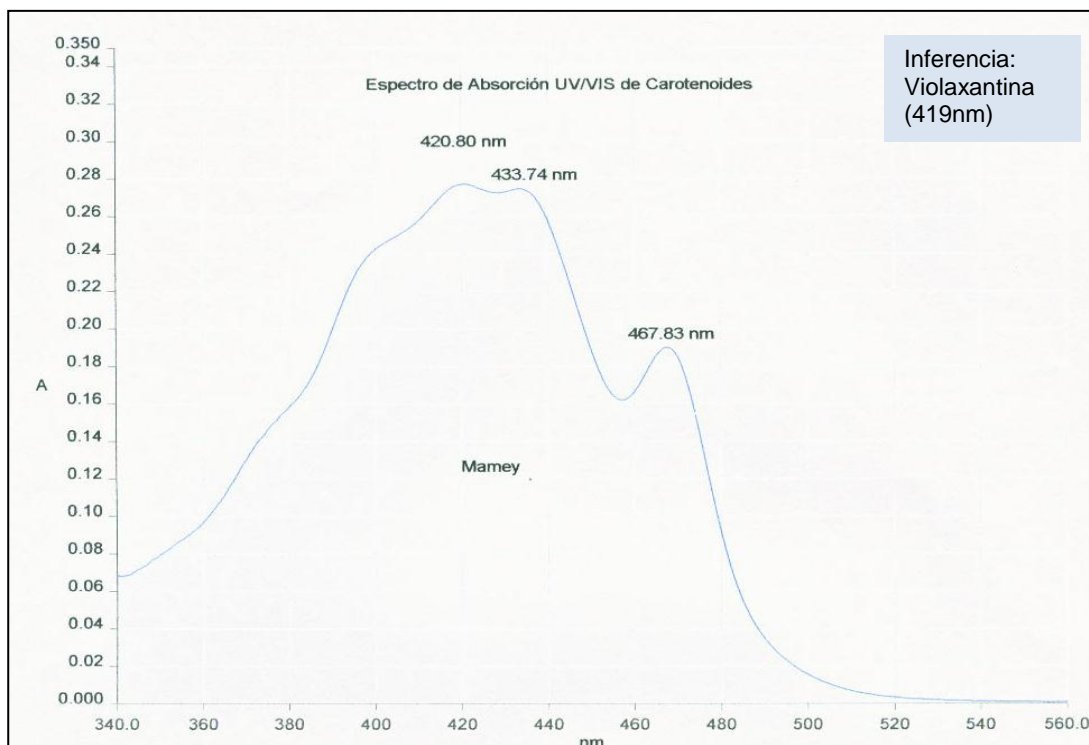


Figura N° 16. Espectro de absorción UV/VIS del contenido de carotenoides totales en mamey.

En la figura anterior (N° 16), puede observarse el rango de longitudes de onda máximas obtenidas en las lecturas del extracto de mamey, el cual va desde 420.80 nm hasta 467.83 nm.

La longitud de onda máxima de la violaxantina (principal carotenoide en el mamey) es de 419 nm utilizando etanol como solvente de extracción ⁽²⁶⁾. La longitud de onda de máxima absorción de 420.80 nm obtenida en el estudio evidencia la presencia de violaxantina en la muestra de *Mammea americana* (mamey). Así también, la falta de carotenoides reportados en referencias bibliográficas que coincidan con las longitudes de onda máxima experimentales puede deberse al solvente utilizado, el cual pudo haber generado un desplazamiento batocrómico o uno hipsocrómico, haciendo variar los valores prácticos de los reportados en otras investigaciones.

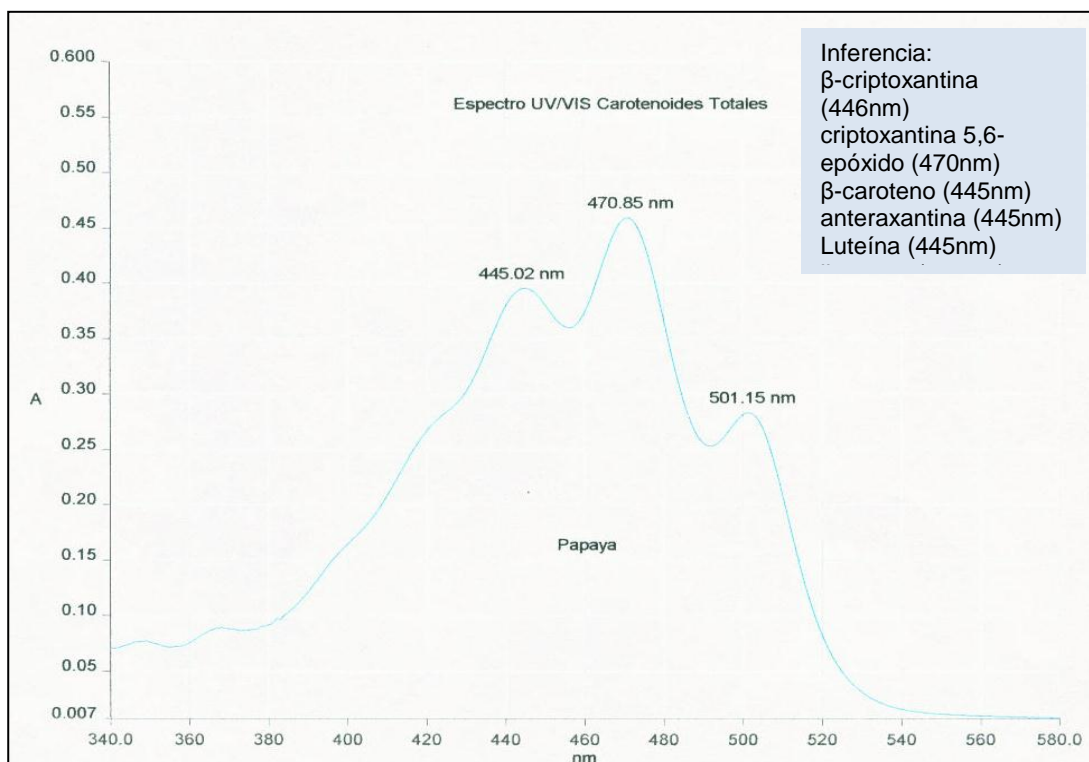


Figura N° 17. Espectro de absorción UV/VIS del contenido de carotenoides totales en papaya.

Thomas Philip y otros, reportan como principales carotenoides contenidos en **C. papaya**, los siguientes: β-criptoxantina, criptoxantina 5,6-epóxido, β-caroteno y anteraxantina. La figura N°17 representa el espectro de absorción visible de los pigmentos extraídos del fruto de **C.papaya** en n-hexano. El rango de longitudes de onda obtenido en la práctica, va de 445 a 501 nm, se observa un máximo a 470.85 nm característico de carotenoides totales ⁽⁴²⁾.

Carotenoides que se encuentran en este rango de absorción (445-501 nm) son: Luteína, licopeno, anteraxantina, β-criptoxantina, criptoxantina 5,6 epóxido, β- caroteno ⁽²⁷⁾. Por lo tanto, según la bibliografía consultada, los carotenoides listados anteriormente podrían estar presentes en el fruto de **Carica papaya** (papaya).

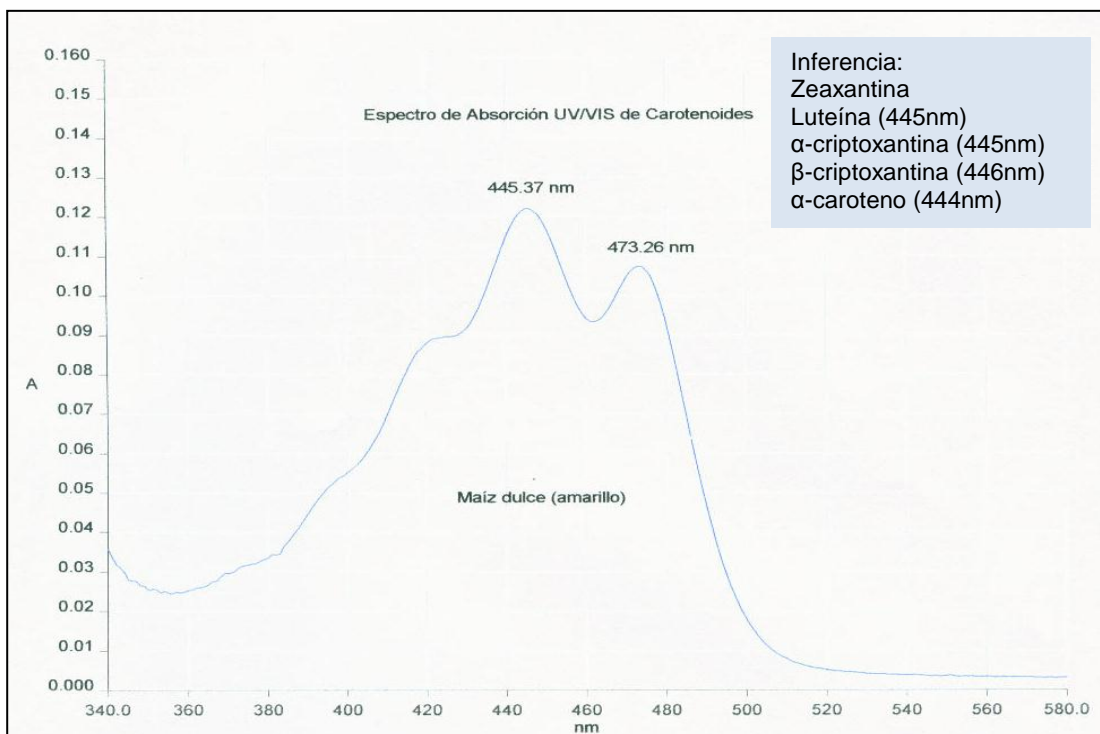


Figura N° 18. Espectro de absorción UV/VIS del contenido de carotenoides totales en maíz dulce.

De acuerdo a investigaciones de Corey Scott y otros, los carotenoides presentes en el maíz dulce son: zeaxantina, luteína, α-criptoxantina, β-criptoxantina, α y β-caroteno.

El espectro de absorción UV-VIS obtenido a partir del extracto de *Zea mays var. rugosa* se presenta en la figura N° 18. Se observa máxima absorbancia a 445.37 nm, con un rango que va de 422 – 473.26 nm. De acuerdo a la fuente bibliográfica consultada y las longitudes de onda obtenidas experimentalmente, los posibles carotenoides presentes en *Zea mays var. rugosa* (maíz dulce) son la zeaxantina (423 nm), α-criptoxantina (445nm), α-caroteno (473nm).

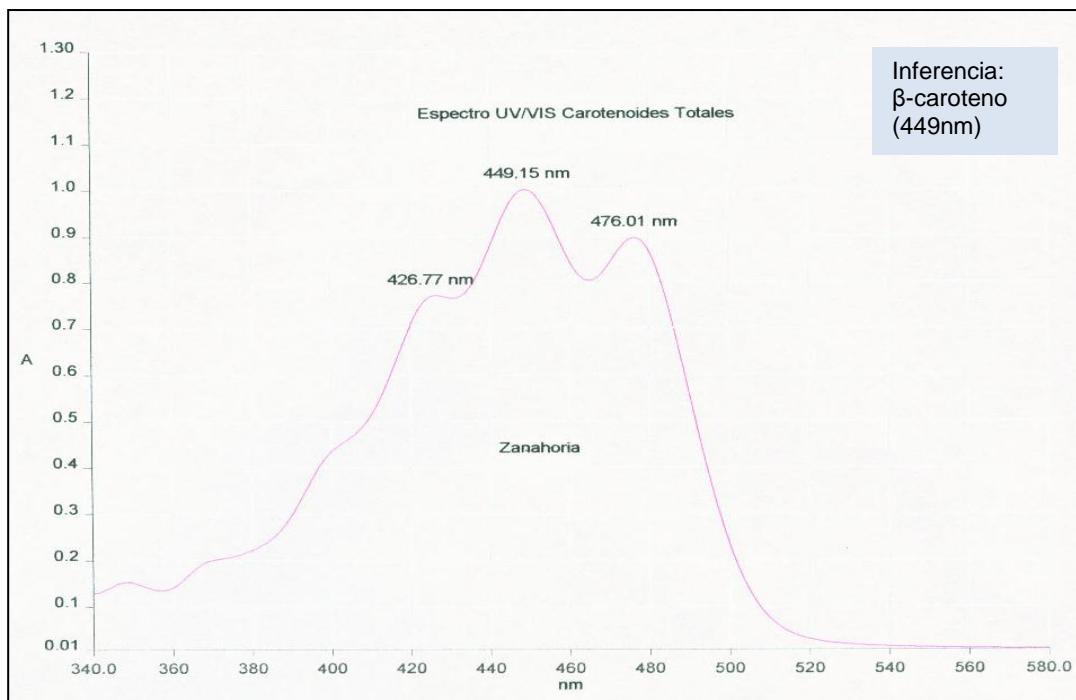


Figura N° 19. Espectro de absorción UV/VIS del contenido de carotenoides totales en zanahoria.

Este tubérculo (zanahoria) se caracteriza por su contenido en α -caroteno, β -caroteno, ζ -caroteno, γ -caroteno, ξ -caroteno y σ -caroteno ⁽²⁷⁾. El espectro de absorción UV visible para la zanahoria se muestra en la figura N° 19, donde se observa una longitud de onda máxima a 449.15 nm, y dos hombros ubicados a cada lado con una longitud de onda de 426.77 nm y 476.01 nm. El β -caroteno, el carotenoide más característico encontrado en la zanahoria absorbe a una longitud de onda máxima de 449 nm, presentando dos picos más, uno a 426nm y otro a 476 nm, extraído utilizando petrolato líquido como solvente ⁽²⁷⁾. Por consiguiente, puede decirse que el carotenoide encontrado en mayor cantidad en la zanahoria es el β -caroteno, ya que las longitudes de onda obtenidas resultan ser muy similares a las reportadas en

la bibliografía. Sin descartar, así, la presencia de los demás carotenoides mencionados.

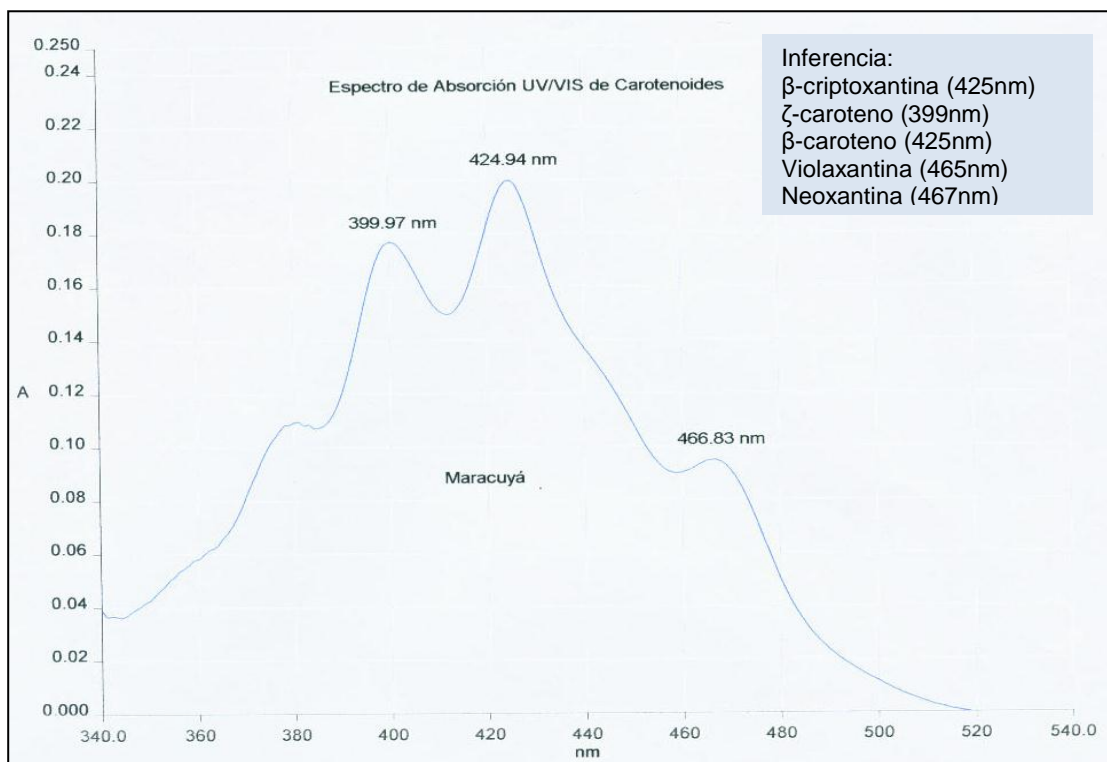


Figura N° 20. Espectro de absorción UV/VIS del contenido de carotenoides totales en maracuyá.

Sandra R. da Silva (2002) en su investigación sobre la composición de carotenoides en el maracuyá, reporta los siguientes: β -criptoxantina, prolicopeno, cis- ζ -caroteno, ζ -caroteno, 13- cis β -caroteno y β -caroteno ⁽¹⁶⁾. Mercadante, además de los carotenoides mencionados por da Silva, reporta los siguientes: Neoxantina, violaxantina, anteraxantina y neurosporeno. La figura N° 20 representa el espectro de absorción visible de los carotenoides extraídos del fruto de *Passiflora edulis f. flavicarpa* (maracuyá) usando n-hexano como solvente de extracción. El rango de longitudes de onda obtenido va de 399.97 a 466.83 nm, observándose máxima absorbancia a 424.94 nm. Los máximos observados en el espectro de absorción obtenido,

pueden atribuirse a la presencia en su mayoría de carotenoides como: ζ -caroteno (399 nm en etanol), β -criptoxantina (425 nm petrolato líquido), violaxantina (465 nm petrolato líquido), neoxantina (467 nm petrolato líquido). Sin embargo, no se descarta la presencia de los demás carotenoides reportados.

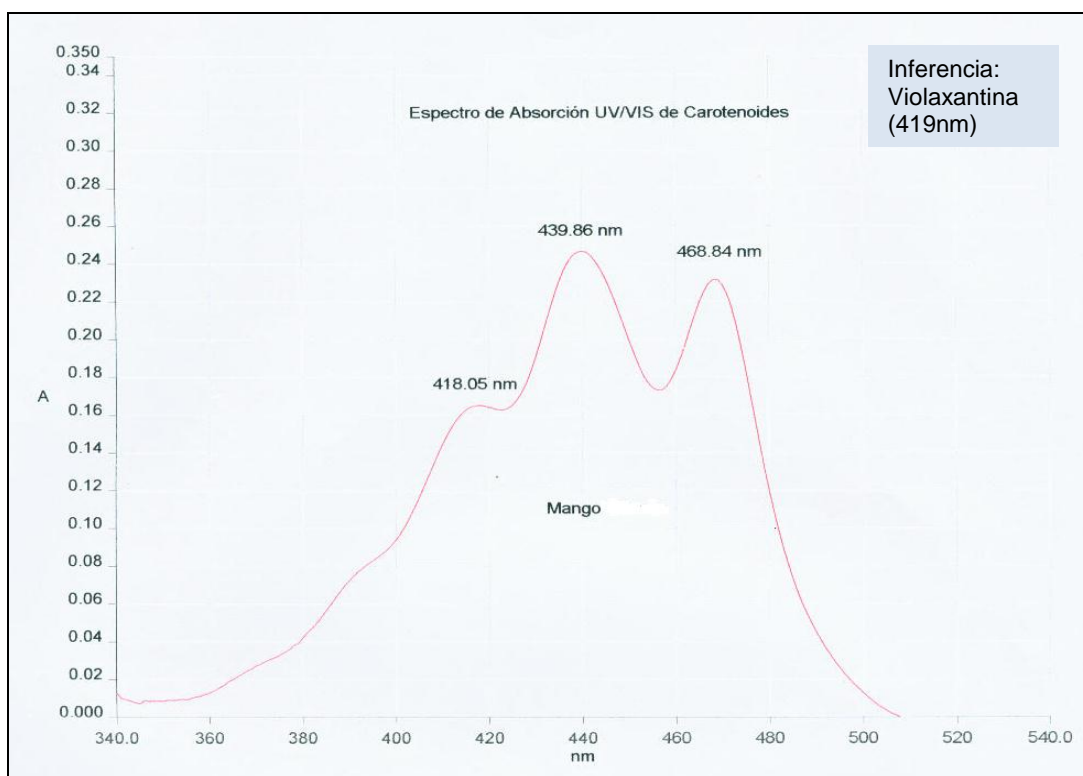


Figura N° 21. Espectro de absorción UV/VIS del contenido de carotenoides totales en Mango.

β -caroteno, violaxantina, anteraxantina, β -criptoxantina, ζ -caroteno, fitoflueno, y fitoeno son carotenoides presentes en mayor concentración en este fruto ^(31,37). El espectro de absorción UV-VIS obtenido a partir del extracto de *Mangifera indica sp.* (mango), muestra un rango de longitud de onda entre 418.05 y 468.84 nm, con un máximo de absorbancia a una longitud de onda de 439.86 nm (figura N° 21). El espectro de absorción UV/VIS para la

violaxantina presenta tres longitudes de máxima absorción características, a 419, 440 y 470 nm utilizando etanol como solvente de extracción. Por lo tanto, dicho carotenoide puede ser el mayoritario dentro del contenido de carotenoides totales en el mango, y los demás que la bibliografía menciona podrían estar siendo enmascarados, ya que se trabajó con una mezcla de carotenoides.

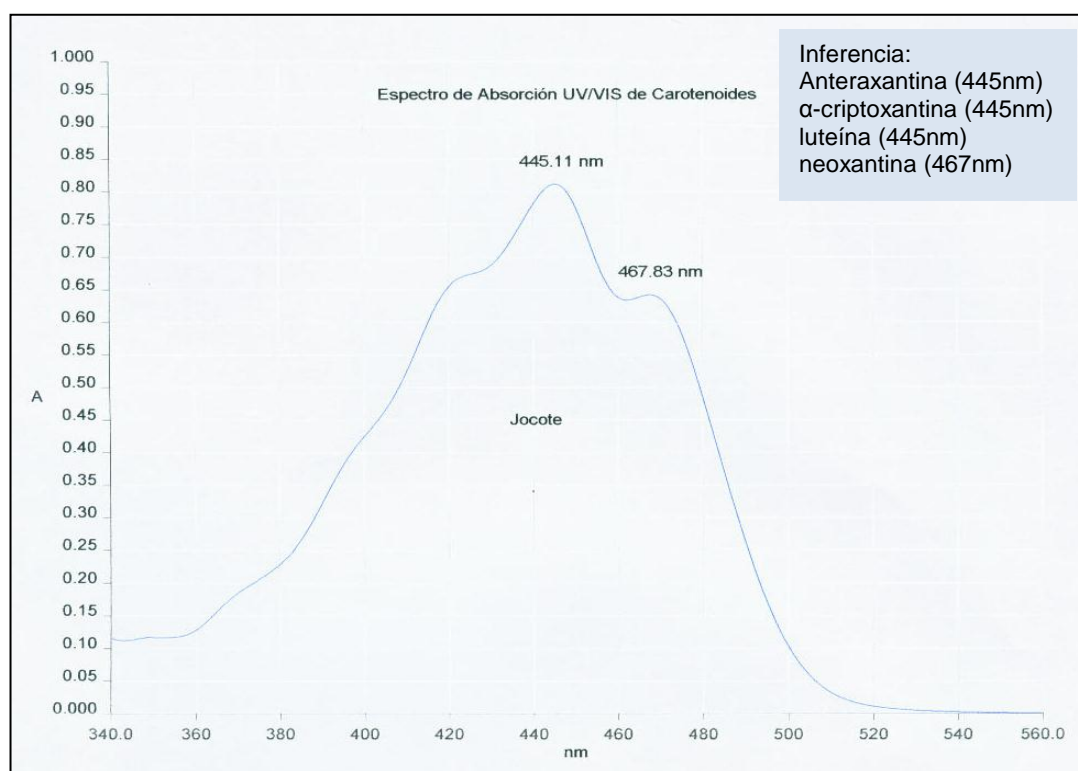


Figura N° 22. Espectro de absorción UV/VIS del contenido de carotenoides totales en Jocote pitarrillo amarillo.

En la figura N° 22 se observa el espectro de absorción UV/VIS obtenido a partir del extracto de *Spondias purpúrea sp.* (jocote pitarrillo amarillo) utilizando como solvente de extracción hexano. Las longitudes de onda obtenidas, son las siguientes: 445.11 nm, 467.83 nm. Posibles carotenoides presentes en mayor cantidad en esta especie son los siguientes:

anteraxantina, α -criptoxantina, luteína (los tres a 445 nm en petrolato líquido), neoxantina a 467 nm en etanol ⁽²⁷⁾.

En la siguiente página se muestra la tabla N° 18, donde aparecen los posibles carotenoides presentes en las especies vegetales estudiadas, tomando en cuenta los espectros de absorción obtenidos en el análisis.

Los carotenoides que aparecen en negrita son los que coincidieron por presencia en la fruta o verdura, tanto para, carotenoides de acuerdo al color del vegetal, color del extracto, y longitudes de onda.

Tabla N° 18. Posibles carotenoides presentes en las ocho especies vegetales en estudio (26, 30,44).

Especie	Color del vegetal	Color del extracto	Carotenoides de acuerdo al color del extracto	Carotenoides de acuerdo al color del vegetal	Bandas del espectro obtenidas			Carotenoides posibles de acuerdo a su longitud de onda
					I	II	III	
Chile rojo	Rojo	Anaranjado	γ -caroteno, β -caroteno, β -criptoxantina, astaxantina	licopeno, γ -caroteno, astaxantina, ζ - caroteno, α -caroteno, capsantina, β -caroteno, fitoflueno, fitoeno		450.88	470.16	Capsantina, β-criptoxantina, β-caroteno, anteraxantina.
Chile anaranjado	Anaranjado	Anaranjado tenue	γ -caroteno, β -caroteno, β -criptoxantina	ζ –caroteno, α -caroteno, β -caroteno, violaxantina bislaurato, β -criptoxantina, β -criptoxantina 5,6-epóxido, Zeaxantina, ζ -caroteno, fitoflueno, fitoeno		448.95	474.98	Capsantina, zeaxantina, violaxantina, anteraxantina, β-caroteno y β-criptoxantina.
Chile amarillo	Amarillo	Amarillo tenue	ξ -caroteno, α -caroteno, α -criptoxantina, luteína, violaxantina	Zeaxantina, ξ -caroteno, luteína, violaxantina, α -caroteno, ζ -caroteno, fitoflueno, fitoeno, ζ –caroteno.	421.95	441.92	469.81	Luteína, luteoxantina, violaxantina.
Mamey	Anaranjado (pulpa)	Amarillo	α -caroteno, α -criptoxantina, luteína, violaxantina	Zeaxantina, ξ -caroteno, luteína, violaxantina	420.80	433.74	467.83	Violaxantina

Tabla N° 18. (continuación)

				α -caroteno, ζ -caroteno, violaxantina bislaurato, β -criptoxantina, β -criptoxantina 5,6- epóxido				
Papaya	Anaranjado	Anaranjado tenue	γ -caroteno, β -caroteno, β -criptoxantina	ζ -caroteno, α -caroteno, β -caroteno, violaxantina bislaurato, β -criptoxantina, β -criptoxantina 5,6- epóxido, Zeaxantina	445.02	470.85	501.15	β-criptoxantina, criptoxantina 5,6- epóxido, β-caroteno, anteraxantina, luteína, licopeno.
Maíz dulce	Amarillo	Amarillo pálido	ξ -caroteno, α -caroteno, α -criptoxantina, luteína, violaxantina, fitoflueno	Zeaxantina, ξ -caroteno, luteína, violaxantina, α -caroteno, ζ -caroteno, fitoflueno, fitoeno, ζ -caroteno.	422	445.37	473.26	Zeaxantina, luteína, α-criptoxantina, β-criptoxantina, β-caroteno, α-caroteno.
Zanahoria	Anaranjado	Anaranjado tenue	γ -caroteno, β -caroteno, β -criptoxantina	ζ -caroteno, α -caroteno, β -caroteno, violaxantina bislaurato, β -criptoxantina, β -criptoxantina 5,6- epóxido, Zeaxantina	426.77	449.15	476.01	β-caroteno
Maracuyá	Amarillo	Amarillo pálido	ξ -caroteno, α -caroteno, α -criptoxantina, violaxantina, fitoflueno	Zeaxantina, ξ -caroteno, luteína, violaxantina, α -caroteno	399.97	424.94	466.83	β -criptoxantina, ζ -caroteno, β -caroteno

Tabla N° 18. (continuación)

Mango	Amarillo	Amarillo tenue	ξ-caroteno, α-caroteno, α-criptoxantina, luteína, violaxantina	Zeaxantina, ξ-caroteno, luteína, violaxantina, α-caroteno	418.05	439.86	468.84	Violaxantina
Jocote pitarrillo amarillo	Amarillo naranja	Anaranjado tenue	γ-caroteno, β-caroteno, β-criptoxantina	ζ-caroteno, α-caroteno, β-caroteno, violaxantina bislaurato, β-criptoxantina, β-criptoxantina 5,6-epóxido, Zeaxantina		445.11	467.83	Anteraxantina, α-criptoxantina , luteína, Neoxantina.

5.3 Cuantificación del contenido de carotenoides totales en base seca y húmeda.

La concentración de carotenoides totales cuantificados (tabla N°19) es expresada como el promedio de las concentraciones (en μg de β -caroteno equivalente/100g de muestra) \pm DS, en base seca y base húmeda.

Tabla N°19. Contenido de carotenoides totales (CCT) en ocho especies vegetales.

ESPECIE	Variedad	% HUMEDAD	% MATERIA SECA	CCT μg de β -caroteno eq/100g Base húmeda*	CCT μg de β -caroteno eq/100g Base seca*
Chile pimiento	Chile rojo	91.38	8.62	104498.35 \pm 6191.94	1212613.04 \pm 71852.08
	Chile anaranjado	89.51	10.49	87626.82 \pm 2852.99	835128.01 \pm 27190.52
	Chile amarillo	91.24	8.76	23032.51 \pm 1641.26	263044.22 \pm 18744.11
Mamey		83.96	16.04	43785.87 \pm 1067.19	272964.58 \pm 6652.92
Papaya		84.50	15.50	46009.13 \pm 2911.54	296739.89 \pm 18778.21
Maíz dulce		74.68	25.32	8855.03 \pm 456.18	34973.32 \pm 1801.72
Zanahoria		89.39	10.62	68879.56 \pm 2905.48	648694.69 \pm 27363.23
Maracuyá		78.98	21.02	10145.34 \pm 530.04	48276.49 \pm 2522.20
Mango		75.25	24.75	23208.01 \pm 752.55	93785.62 \pm 3041.14
Jocote pitarrillo amarillo		80.71	19.29	66006.98 \pm 6059.58	342152.49 \pm 31410.34

* Media \pm DS

Al comparar los resultados obtenidos en las muestras vegetales, se determinó que el chile rojo es la mayor fuente de carotenoides dentro de los vegetales en estudio, al poseer la mayor cantidad de μg de β -caroteno equiv/100 g tanto para base seca como en base húmeda.

El maíz dulce resultó ser el vegetal con menor contenido de carotenoides totales determinados en base seca y base húmeda, reflejándose también en la coloración amarillo pálido de su extracto.

Por lo tanto, de acuerdo a la cantidad de carotenoides totales en las frutas y verduras en estudio, se pueden ordenar de mayor a menor CCT en base seca, como sigue: Chile rojo, chile anaranjado, zanahoria, jocote, papaya, mamey, chile amarillo, mango, maracuyá y maíz dulce.

Existe una diferencia entre los valores de carotenoides totales cuantificados, obtenidos a partir de las especies vegetales analizadas para base húmeda y base seca, por ejemplo, en la concentración de carotenoides totales encontrados en la especie ***Capsicum annuum var. rubrum*** (chile rojo) Tabla N° 20, en la cual se observa una diferencia en la concentración de carotenoides totales de 8.62%. Diferencias considerables pueden ser encontradas de igual forma en dicha tabla.

Tabla N° 20. Diferencia en porcentaje, entre las concentraciones de carotenoides totales calculadas en base seca y base húmeda, expresada en μg de β -caroteno eq/100g.

Especie vegetal	μg de β-caroteno eq/100g Base húmeda	μg de β-caroteno eq/100g Base seca	Diferencia en % de la concentración entre base seca y base húmeda
Chile rojo	104498.35 \pm 6191.94	1212613.04 \pm 71852.08	8.62%
Chile anaranjado	87626.82 \pm 2852.99	835128.01 \pm 27190.52	10.49%
Chile amarillo	23032.51 \pm 1641.26	263044.22 \pm 18744.11	8.76%
Mamey	43785.87 \pm 1067.19	272964.58 \pm 6652.92	16.04%
Papaya	46009.13 \pm 2911.54	296739.89 \pm 18778.21	15.52%
Maíz dulce	8855.03 \pm 456.18	34973.32 \pm 1801.72	25.32%
Zanahoria	68879.57 \pm 2905.48	648694.69 \pm 27363.23	10.62%
Maracuyá	10145.34 \pm 530.04	48276.48 \pm 2522.20	21.02%
Mango	23208.01 \pm 752.55	93785.62 \pm 3041.14	24.75%
Jocote pitarrillo amarillo	66006.98 \pm 6059.58	342152.49 \pm 31410.34	19.29%

De acuerdo a los datos obtenidos, se observa un aumento en la cantidad de carotenoides cuantificados en base seca en los vegetales estudiados, lo que posiblemente se deba a la pérdida de humedad, compuestos volátiles y sólidos solubles no siempre tomados en cuenta ⁽⁶⁾.

Consecuentemente, la concentración de carotenoides presentes en un alimento es inversamente proporcional al porcentaje de humedad que contiene el mismo. Esto comparado con la investigación realizada por Begoña et. al., donde se muestra que el contenido de carotenoides

cuantificados, puede verse aumentado por tratamientos térmicos debido a los factores antes mencionados.

5.4 Establecimiento de la existencia o no de diferencias significativas entre el contenido de carotenoides totales cuantificados en los diversos frutos y vegetales evaluados, por medio de análisis estadístico (Análisis de varianza, ANOVA).

El valor de p en el análisis de varianza, determina si hay diferencias significativas entre las medias. El análisis de varianza (ANOVA) se ha realizado al 95% de confianza entre las ocho especies en estudio, así como también, en las tres variedades de chile, por pertenecer éstas a la misma especie.

En la siguiente tabla se muestran los resultados derivados del ANOVA, realizado al contenido de carotenoides totales (en base húmeda) en las ocho especies vegetales analizadas, utilizando el programa estadístico Minitab Versión 15.0.

Tabla N° 21. ANOVA del contenido de carotenoides totales (CCT) en ocho especies vegetales.

Fuente	Suma de Cuadrados	de gL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	5.84831E10	9	6.49812E9	618.84	0,0000
Intra grupos	5.25025E8	50	1.05005E7		
Total (Corr.)	5.90081E10	59			

La tabla N° 21 descompone la varianza del CCT (determinados en base húmeda) en dos componentes: un componente entre grupos y uno dentro de grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 618.839, es el cociente entre el estimado entre grupos y el estimado dentro de grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia

estadísticamente significativa entre la media del CCT entre una especie y otra, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla N° 22. ANOVA para el contenido de carotenoides totales en las tres variedades de chile en estudio.

Fuente	Suma de Cuadrados	de gL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2.21875E10	2	1.10938E10	676,81	0,0000
Intra grupos	2.45867E8	15	1.63611E7		
Total (Corr.)	2.24334E10	17			

En la tabla N° 22 se presenta el análisis de varianza realizado al CCT en base húmeda para las tres variedades de chile. El análisis de varianza indica que se encontraron diferencias significativas entre las variedades estudiadas ($p < 0.05$), lo cual significa que, estadísticamente, las variedades de chile poseen diferente contenido de carotenoides totales.

Tabla N° 23. ANOVA para el contenido de carotenoides totales en base seca determinados en las ocho especies vegetales analizadas.

Fuente	Suma de Cuadrados	de gL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	7,8655E12	9	8,73944E11	1039,86	0,0000
Intra grupos	4,20224E10	50	8,40448E8		
Total (Corr.)	7,90752E12	59			

Los resultados del ANOVA se muestran en la tabla anterior N° 23, donde aparece el valor-P de la prueba-F, el cual es menor que 0.05, por lo tanto, existe una diferencia estadísticamente significativa en el CCT entre las distintas especies en estudio.

Tabla N° 24. ANOVA para el contenido de carotenoides totales determinados en base seca en las tres variedades de chile pimiento.

Fuente	Suma de Cuadrados	de gL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2,74291E12	2	1,37146E12	657,94	0,0000
Intra grupos	3,12669E10	15	2,08446E9		
Total (Corr.)	2,77418E12	17			

Respecto a la tabla de ANOVA N° 24, se puede observar que el valor-P, es menor que 0.05, por lo tanto, existe una diferencia estadísticamente significativa en la media del CCT entre las tres variedades de chile en estudio ($\alpha = 0.05$).

Tanto para los resultados de CT en base seca, como en base húmeda se rechaza la hipótesis nula, es decir, que si existen diferencias significativas entre el contenido de carotenoides totales cuantificados en los diversos frutos y vegetales evaluados.

CAPÍTULO VI
CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. El análisis de varianza reveló que el contenido de carotenoides totales varía considerablemente de una especie a otra. También existen variaciones significativas entre muestras de la misma especie (chile) pero de distinta variedad, debido a, factores genéticos, etapa de madurez, diferentes cultivares, efectos climáticos o geográficos, manejo post-cosecha, almacenamiento, etc. ⁽⁴⁶⁾.
2. El color del vegetal puede servir como el primer indicio en las frutas y verduras de color amarillo a naranja, para encontrar importantes fuentes locales de carotenoides. Los resultados de este estudio, indican que, las especies vegetales analizadas, son una fuente promisoría de carotenoides, por lo que una ingesta frecuente y variada de estas frutas y verduras podría disminuir el riesgo a desarrollar enfermedades degenerativas, así como de enfermedades cardiovasculares. Logrando así, un mayor beneficio para la salud.
3. Las frutas y verduras analizadas contienen una mezcla de carotenoides. La intensidad de los extractos orgánicos obtenidos, dependen de cuales carotenoides están presentes y de sus concentraciones; así como del número de dobles enlaces, presencia de anillos terminales, presencia de grupos funcionales oxigenados entre otras. También es importante tomar en cuenta el tipo de solvente utilizado, la técnica de extracción de los carotenoides y el método para la cuantificación de los mismos.

4. La especie ***Capsicum annuum var.rubrum*** (chile rojo) es la que muestra mayor contenido de carotenoides totales de las ocho especies vegetales analizadas, el estudio reveló que la zanahoria aún cuando posee como principal carotenoide al β -caroteno, presenta una concentración de carotenoides totales por debajo de la concentración encontrada en el chile rojo y chile anaranjado. Mientras que el maíz dulce contiene menor concentración de carotenoides totales comparado con las demás especies estudiadas.

5. Los carotenoides pueden jugar roles importantes en la salud humana además de su ya bien conocida actividad provitamina A. La presencia o ausencia de los mismos en una membrana, podría afectar el funcionamiento de esta; permitiendo de esa manera que dichos pigmentos, ya sea directa o indirectamente, se involucren en una gran diversidad de procesos dentro del organismo, para lograr un balance entre los agentes oxidantes y antioxidantes.

6. El solvente orgánico utilizado (hexano) demostró ser efectivo para la extracción de los carotenoides presentes en las muestras vegetales analizadas, lo que se refleja en los espectros de absorción obtenidos, los cuales coinciden con la forma característica de un espectro de absorción ultravioleta/visible de carotenoides en el rango de 400-500 nm.

7. Los resultados y la interpretación de los mismos reportados en el presente trabajo pueden ser aplicados únicamente a las especies y variedades vegetales comercializadas en la Zona Metropolitana de San Salvador, ya que las metodologías y equipo utilizados para el análisis, así como, las formas determinadas (totales, formas libres, etc.), son causa de resultados variables entre distintas investigaciones.

8. Los hongos son también una fuente importante de carotenoides; investigaciones recientes están dirigidas a la introducción de procesos biotecnológicos seguros, usando microorganismos, bacterias, levaduras y hongos, para la producción de carotenoides a escala industrial.

CAPÍTULO VII
RECOMENDACIONES

7.0 Recomendaciones

1. Implementar por medio del Ministerio de Agricultura y Ganadería, programas de cultivo y educación nutricional que promuevan la siembra y el consumo, de frutas y verduras tradicionales y no tradicionales comercializadas en El Salvador. Ya que, como se ha indicado anteriormente, gran número de estudios epidemiológicos han evaluado los riesgos de padecer enfermedades degenerativas, encontrando una asociación positiva entre los niveles elevados en suero de carotenoides y una mayor protección frente al desarrollo de dichas enfermedades. Por lo que un consumo diario de 5 a 7 raciones de frutas y verduras es recomendado ⁽⁶⁾.
2. Realizar estudios por la Universidad de El Salvador, sobre la caracterización y cuantificación del mayor número de carotenoides en alimentos, para una mejor interpretación de los estudios epidemiológicos que relacionan dieta y salud, debido a la importancia del tema dentro de la realidad nutricional del país.
3. Realizar estudios por las instituciones de salud pertinentes, en los cuales se mida la capacidad antioxidante de los carotenoides de manera individual y colectiva. Para mejorar el conocimiento acerca de su mecanismo de acción y establecer que grupo de carotenoides posee mayor acción antioxidante dentro del organismo humano.

4. Desarrollar por medio de las instituciones de salud pública, estudios que revelen si la población salvadoreña consume la cantidad necesaria de compuestos antioxidantes a partir de su dieta alimenticia, detectando la concentración de éstos compuestos en el plasma o en la sangre de las personas, y a partir de esos resultados inferir el grado de relación que pueda tener la ausencia o deficiencia de antioxidantes de origen natural con el padecimiento de enfermedades degenerativas.

5. Llevar a cabo estudios a través de la Facultad de Química y Farmacia, sobre caracterización individualizada de carotenoides utilizando un método de cromatografía de alta eficacia (HPLC), debido a su mayor especificidad y sensibilidad a los análisis, permitiendo diferenciar compuestos con distinta actividad biológica, en diferentes especies de vegetales de nuestro país⁽⁶⁾.

5. Aplicar la metodología analítica utilizada en esta investigación para la determinación de carotenoides totales en hongos productores de carotenoides (*Phycomyces*) y de esta manera determinar si pueden ser usados para la producción a escala industrial de dichos pigmentos, los cuales son muy utilizados como colorantes alimenticios y algunos pueden ser fuente de vitamina A.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. Alfaro, C. y otros 1993. Determinación de β -caroteno en vegetales cultivados en El Salvador. Trabajo de graduación Ing. Agr. El Salvador, Universidad Centroamericana "José Simeón Cañas". p. 56.
2. AOAC (Asociation of Official Analytical Chemists). 2002. Official Methods of Analisis of AOAC International. 17th edition. Chapter 37. p 6.
3. APROCSAL (Asociación de promotores comunales salvadoreños). 2002. Cincuenta especies de la flora medicinal existente en El Salvador. 1ªed. El Salvador. Imprenta Díaz. p. 72.
4. Avilán, L. y otros 1988. Manual de fruticultura. 1ª ed. Venezuela. Editorial América, CA. p. 309-313, 437-440, 581-583, 644, 659-661, 664, 993-999.
5. Barberán, T. y otros 1997. Phytochemistry of fruits and vegetables. Clarendon Press. Oxford. U.S.
6. Begoña, A. et al. 2001. Carotenoides y salud humana. Fundación Española de la Nutrición, Madrid. p. 24-26; 29-33.
7. Belitz, H-D. y otros. 1992. Química de los Alimentos. 2ª edición. Zaragoza, España. Editorial Acribia. p. 125.
8. Bruneton, J. 1991. Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia. 1ª edición. Zaragoza, España. Editorial Acribia. p. 347.

9. Calvo, M. 2005. Lutein: A Valuable Ingredient in Fruits and Vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. (45): 671-696.
10. Camargo, B., et. al. 2004. El Cáncer aspectos básicos sobre su biología, clínica, prevención, diagnóstico y tratamiento. Ministerio de la protección social. Instituto Nacional de Cancerología E.S.E, España. p. 8-9.
11. Campos, D. et. al. 2006. Antioxidant capacity and secondary metabolites in four species of Andean tuber crops: native potato (*Solanum* sp.), mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon), Oca (*Oxalis tuberosa* Molina) and ulluco (*Ullucus tuberosus* Caldas). *Journal of Sciences of Food and Agriculture*. 86:1481-1488.
12. Canales, F. et. al. 1986. Metodología de la investigación. Manual para el desarrollo de personal de salud. 1ª ed. México, D.F. Editorial Limusa. p. 134, 149, 155, 156.
13. Corey E. et. al. 2004. Comparison of carotenoid content in fresh, frozen and canned corn. *Journal of Food Composition and Analysis*.
Abstract
14. Cox, S. 2001. Lycopene analysis and horticultural attributes of tomatoes. Thesis for the degree of Master of Science. U.S.A., Colorado State University. p. 15, 16, 27, 28.

15. Charley, H. 2004. Tecnología de alimentos, procesos químicos y físicos en la preparación de alimentos. 2ª ed. México. Limusa Noriega Editores. p. 327-328.
16. Cheftel, J. 1976. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. 2ªed. Zaragoza, España. Editorial Acribia. p. 207-208.
17. Da Silva, S. 2002. COMPOSIÇÃO DE CAROTENÓIDES DE MARACUJÁ-AMARELO (*Passiflora edulis flavicarpa*) IN NATURA. Cienc. Technol. Aliment. , Campinas, 22(3):254-258; set.-dez.
18. Dar, A. 1981. Tecnología Farmacéutica. Zaragoza, 2ªed. España. Editorial Acribia.
19. Díaz, J. 1981. Atlas de frutas y hortalizas. 1ª Edición. España, Valencia. Artes Gráficas Vincent, S.A. p. 117, 337, 376.
20. Dugas, T. 1998. Impact of LDL carotenoid and α -tocopherol content on LDL oxidation by endothelial cells in culture. Journal of Lipid Research. 39: 999-1007.
21. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 1993. El maíz en la nutrición humana. Roma. Disponible en:
<http://www.fao.org/docrep/T0395S/T0395S00.HTM>
22. Fennema, O. et. al. 2000. Química de los Alimentos. Zaragoza, 2ªed. España. Editorial Acribia. p. 799-806.

23. Fernández-Britto, J. et al. 1999. Ateroesclerosis, colesterol y pared arterial: Algunas reflexiones. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas. 18(3): 169-75.
24. Figueroa, F. 1990. Determinación del valor nutritivo de algunas frutas tropicales consumidas en El Salvador. Trabajo de graduación Lic. en Química y Farmacia. Universidad Nueva San Salvador (UNSSA). p. 15-17.
25. Giovannucci E. 2002. A Prospective Study of Tomato Products, Lycopene, and Prostate Cancer Risk. Journal of the National Cancer Institute. 94(5): 391-398.
26. Hayness C. et al. 2003. Maíz dulce. Guía de horticultura de Iowa. State University of Science and Technology. Estados Unidos, p. 2.
27. Hurst J. W. 2002. Methods of Analysis for Functional Foods and Nutraceuticals. 1º ed. London. CRC PRESS. p. 104-115
28. INCAP (INSTITUTO DE NUTRICIÓN PARA CENTROAMÉRICA Y PANAMÁ). Tablas de composición de alimentos de Centroamérica. Disponible en:
www.tabladealimentos.net/tca/TablaAlimentos/referencias2.html
29. Instituto Omega tres. 2008. Guía de Alimentos Funcionales. Puleva Food y SENC. España. p. 6 y 7.
30. Kalt, W. 2005. Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. Journal of Food Science. Institute of Food Technologists. 70 (1): 11-19.

31. Khachik, F. 1991. Separation, identification, and quantification of carotenoids in fruits, vegetables and human plasma by high performance liquid chromatography. *Pure&App/. Chem.*, Vol. 63, No. 1, pp. 71-80.
32. Kopsell, D. et. al. 2006. Accumulation and bioavailability of dietary carotenoids in vegetable crops. *TRENDS in Plant Science*. 11 (10): 499-507.
33. Kriško, A. et. al. 2004. Analysis of β -carotene absorbance for studying structural properties of human plasma low-density lipoproteins. *Analytical Biochemistry*. (331): 177-182.
34. MacDonald-W. et al. 2006. Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: A review. *Journal of Science of Food and Agriculture*. (86): 2046-2056.
35. MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería). Programa Nacional de Frutas de El Salvador. Formato PDF. Disponible en:
<http://www.centa.gob.sv>
36. Martínez, A. 2003. Carotenoides. Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquía. Medellín, Colombia. (2-10). Disponible en:
<http://www.farmacia.udea.edu.co>
37. Montes, A. 1996. Cultivos de hortalizas en el trópico. Honduras, Zamorano. Escuela Agrícola Panamericana. Dpto. de agricultura. p. 49,103, 104-105, 195,198, 199.

38. Moore, Jennifer. 2003 Carotenoid synthesis and retention in mango (*Mangifera indica*) fruit and puree as influenced by postharvest and processing treatments. A thesis presented in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science. University of Florida. p 5,41.
39. Moreno, M. et. al. 2007. Evaluación del contenido de carotenoides totales en cáscaras de algunas variedades de naranjas venezolanas. Revista Facultad de Agronomía (LUZ) 23: 298-305.
40. MSPAS (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social). Cánceres y Tumores por sexo, Hospital Rosales, 2007.
41. Parada Berríos, Fidel. 2000. El cultivo de jocote de verano (*Spondia purpurea* L.) Imprenta UES. p.23.
42. Pfander, H. 1992. Carotenoids: an overview. Methods in enzymology. Vol: 213. Estado Unidos. By Academic press, Inc. p. 4.
43. Philip T., et. al. 1988. Quantitative Analyses of Major Carotenoid Fatty Acid Esters in Fruits by Liquid Chromatography: Persimmon and Papaya. Food Science & Nutrition, Department of Home Economics, California State Univ., Northridge. Abstract
44. Remington, G. 2005. The science and practice of Pharmacy. 21th Edition, United States. Lippincott Williams & Wilkins Co.
45. Rodríguez, Delia et. al. 2004. Harvest Plus handbook for carotenoid analysis. Washington, DC. USA. Harvest Plus p.1-58.

46. Rodríguez-Amaya, D. 1999. Carotenoides y Preparación de alimentos: La retención de Carotenoides provitamina a en alimentos Preparados, Procesados y Almacenados. Departamento de Ciencias de Alimentos Faculdade de Engenharia de Alimentos. Brasil . p. 5, 8.
47. Rodríguez-Bernaldo, A. 2006. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples. A review. Journal of Food Composition and Analysis. (19): 97-111.
48. Spence, J. 2006. Challenges related to the composition of functional foods. Journal of Food Composition and Analysis (19): S4-S6.
49. Tamayo y Tamayo, M. 1992. El proceso de investigación científica. Fundamentos de investigación con manual de evaluación de proyectos. 2ª ed. México, D.F. Editorial Limusa. p. 94, 95, 113, 114.
50. Tamayo y Tamayo, M. 1999. Diccionario de la investigación científica. 2ªed. México, D.F. Editorial Limusa. p.130.
51. Toledo T. et al, 2004. Propiedades biológicas de los tintes naturales. Biological properties of natural dyes. Ars Pharmaceutica, 45(1): 5-20.
52. USDA (United States Department of Agriculture). 2007. Nutrient data laboratory Release 20. Consultado 15 marzo, de 2008. Disponible en : <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search>
53. WHO (World Health Organization), 2006. Cancer. Consultado el 17 de marzo de 2008. Disponible en: <http://www.worldhealthorganization.com>

54. Yong, L., et. al. 1994. Relationship between dietary intake and plasma concentrations of carotenoids in premenopausal women application of the USDA-NCI carotenoid food-composition. USA. The American Journals of Clinical Nutrition. (60): 223-230.

GLOSARIO

GLOSARIO

Isopreno: (2-metil-1,3-butadieno), de fórmula empírica C_5H_8 , es un hidrocarburo doblemente insaturado que se emplea como bloque unidad de cinco carbonos en la biosíntesis de los terpenos, activado por fosforilación, en forma de isopentenilpirofosfato (“isopreno activo”).

Cromóforo: Unidad estructural asociada con una transición electrónica en la espectroscopía de ultravioleta/visible.

Desplazamiento batocrómico: Desplazamiento a longitudes de onda mayores de las longitudes de onda máxima.

Desplazamiento hipsocrómico: Desplazamiento a longitudes de onda menores de las longitudes de onda máxima.

Aterosclerosis: Condición en la cual las sustancias grasas se acumulan en la capa interna de las arterias, volviéndolas grandemente anchas.

Lipoproteína: Complejo de lípido y proteína. Consiste de una capa superficial de fosfolípidos, colesterol y proteína rodeando una capa de triglicéridos.

Hiato aniónico: Es la diferencia entre cationes y aniones medidos en el plasma. Un aumento se este, es consecuencia de falla de eliminación de ácidos orgánicos o por ingesta de tóxicos.

Hipercolesterolemia: Exceso de colesterol en la sangre.

Degeneración macular senil: Enfermedad de los ojos que causa una pérdida de visión irreversible. Afecta a la porción central de la retina, la parte del ojo que recibe los estímulos luminosos y los transmite al cerebro.

ANEXOS

ANEXO N° 1

ANEXO N°1

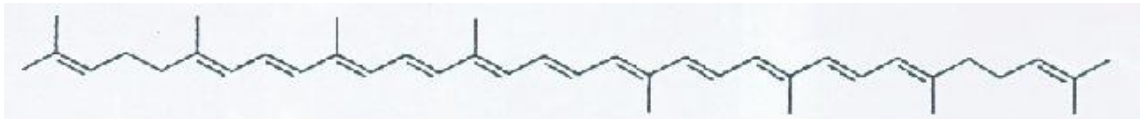
ESTRUCTURAS QUIMICAS DE CAROTENOIDES Y XANTOFILAS COMUNMENTE ENCONTRADOS EN LOS ALIMENTOS ⁽²⁷⁾.



Fitoeno



Fitoflueno



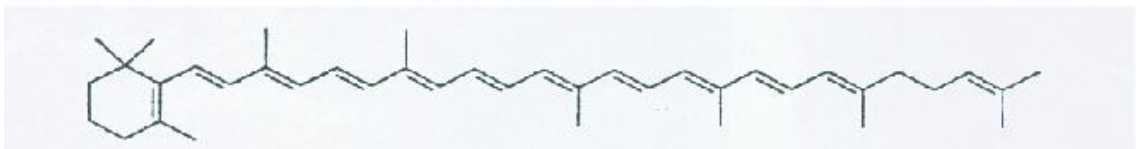
Licopeno



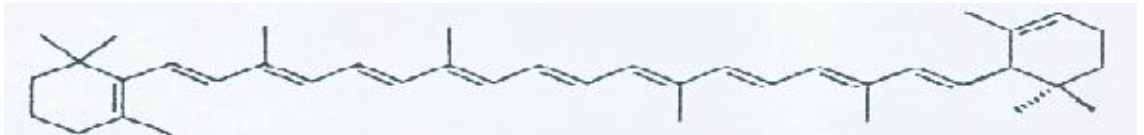
ϵ -caroteno



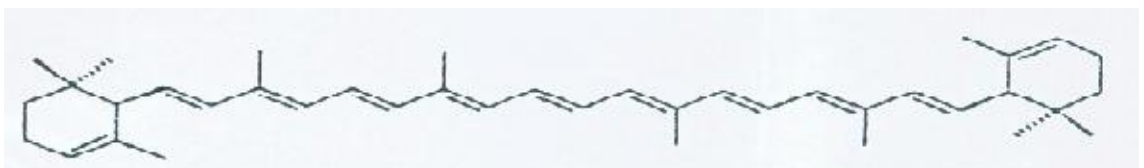
Neurosporeno



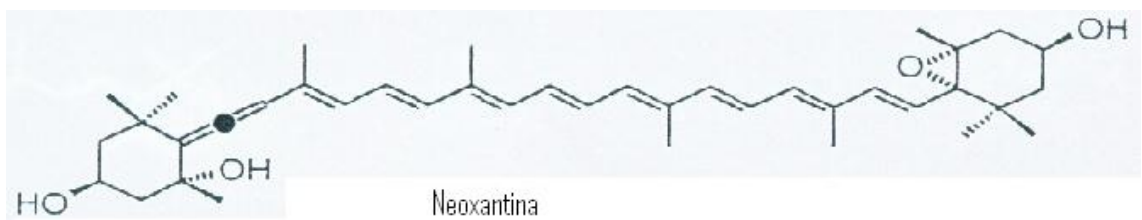
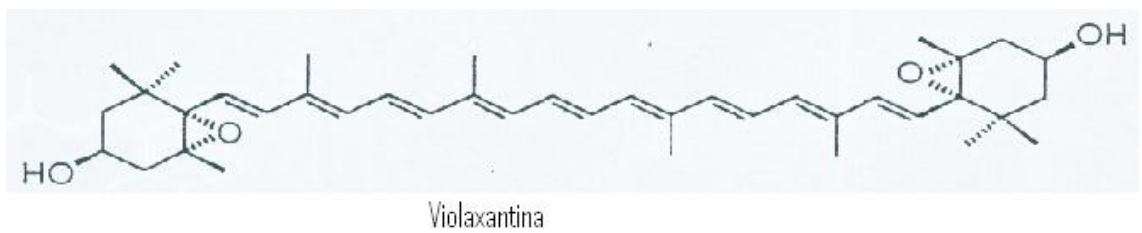
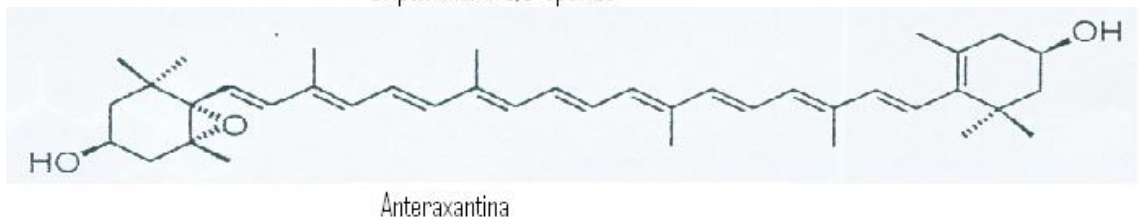
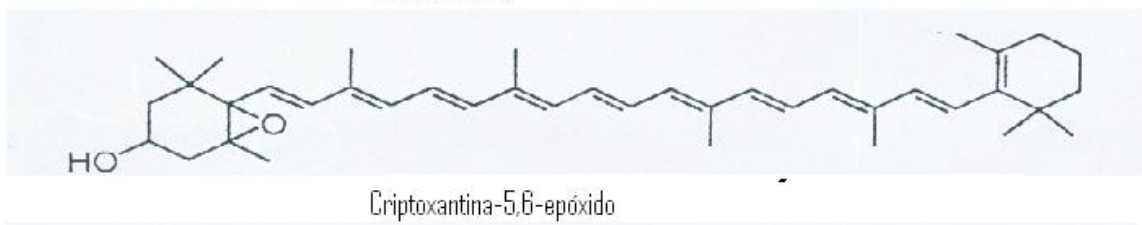
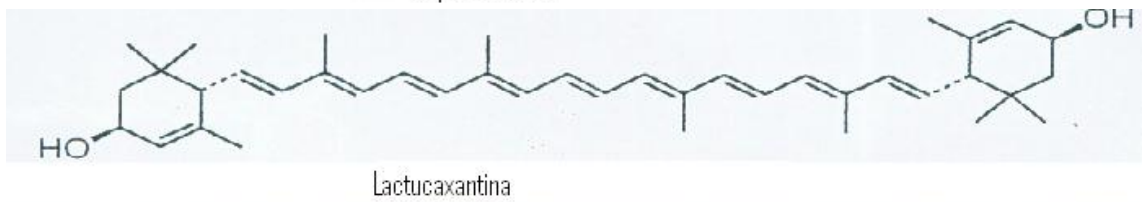
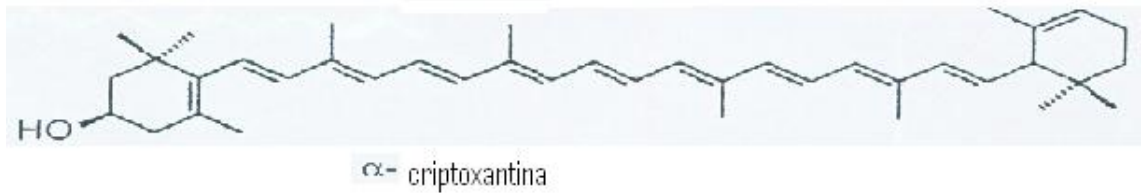
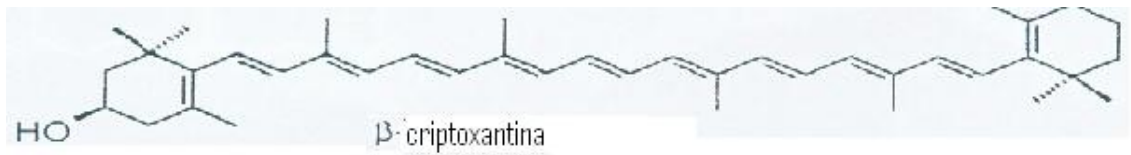
γ -caroteno

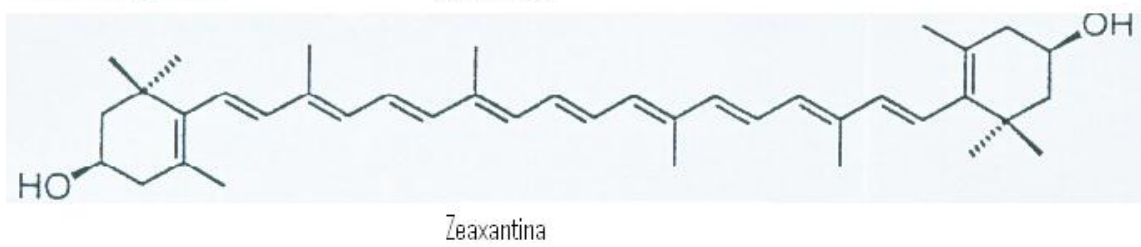
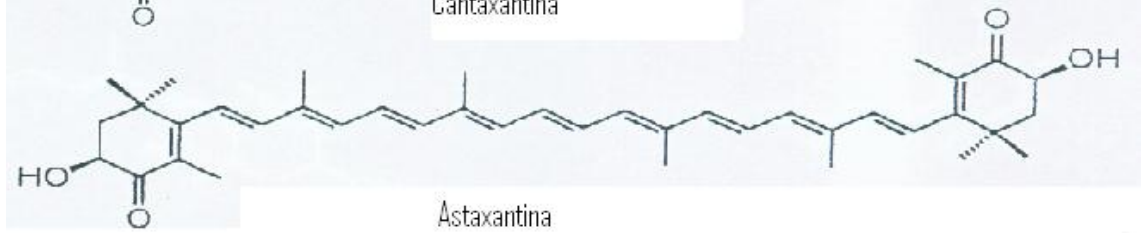
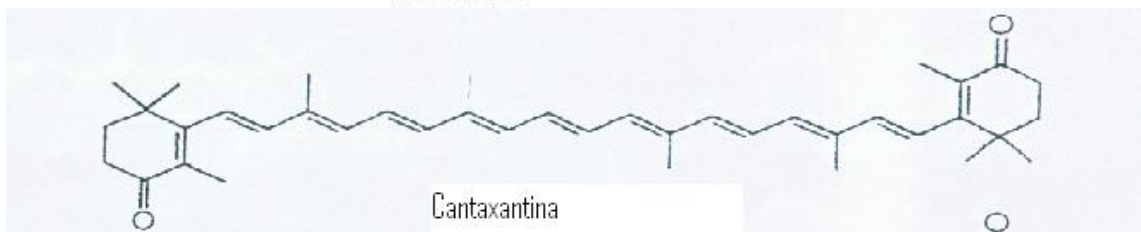
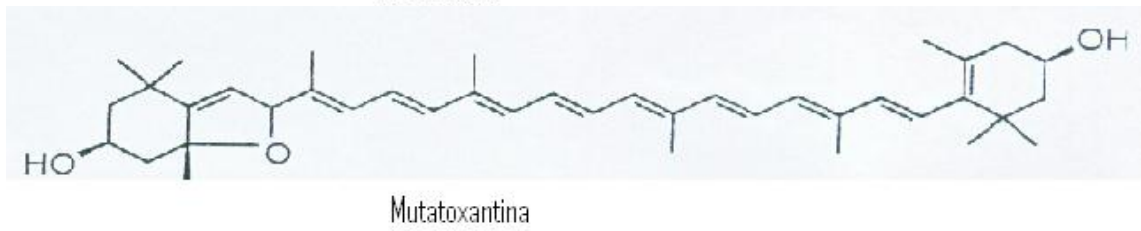
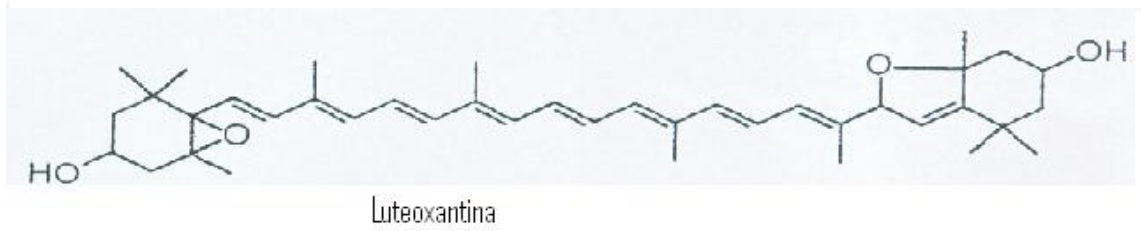
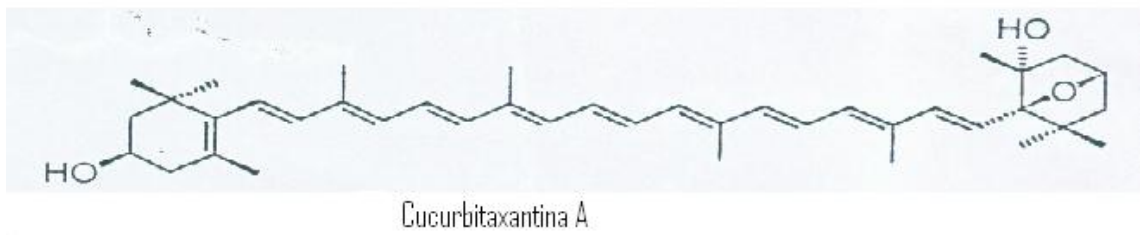
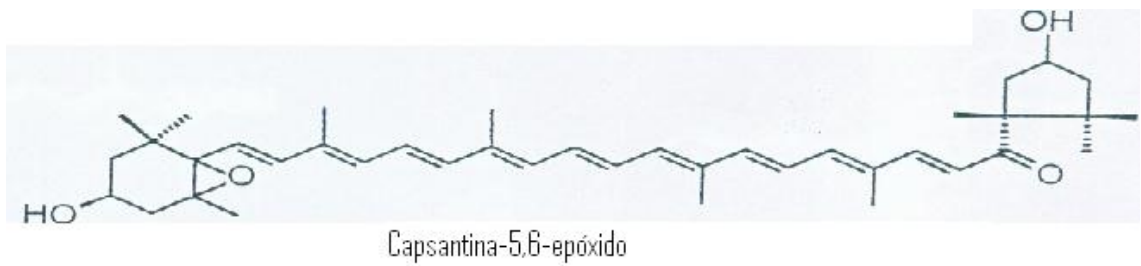


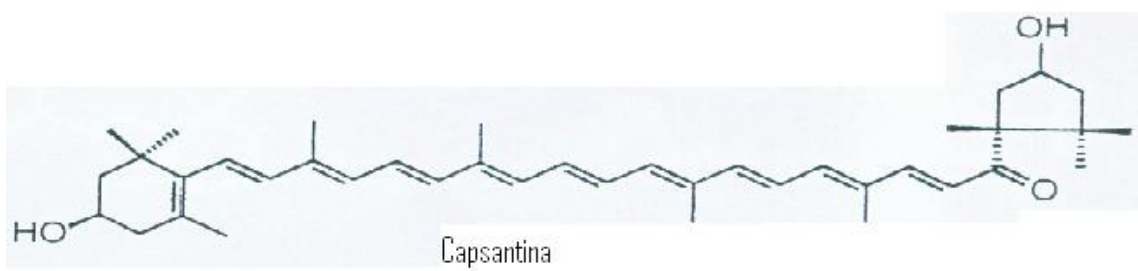
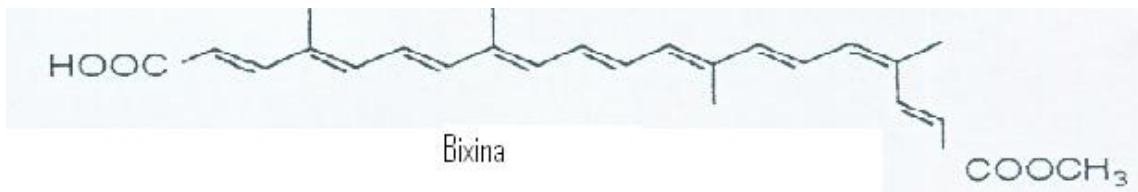
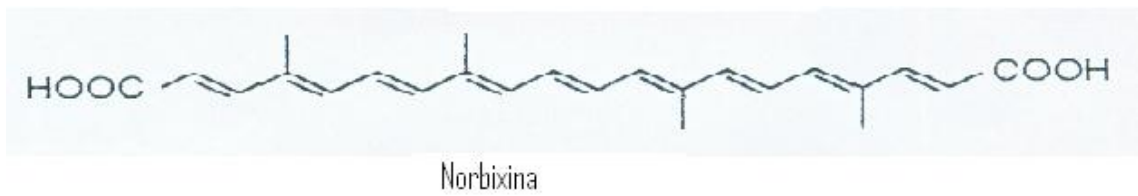
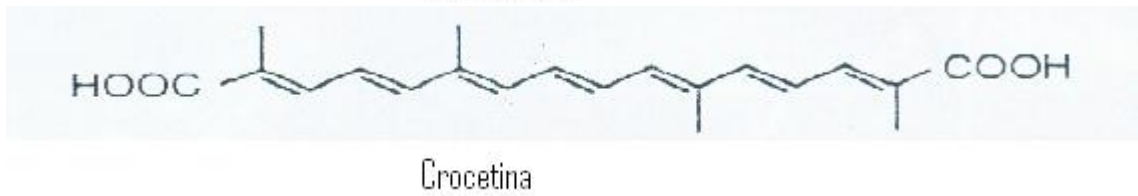
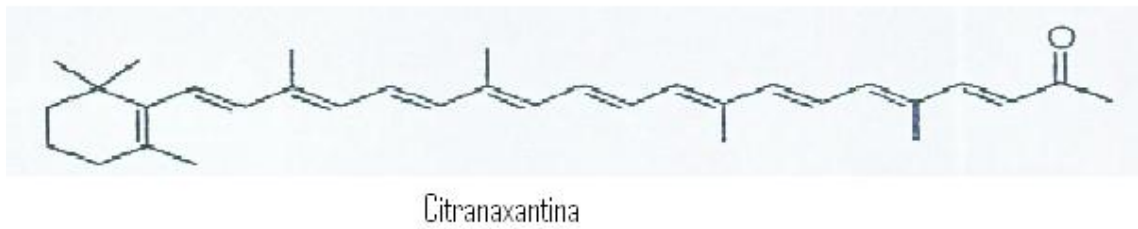
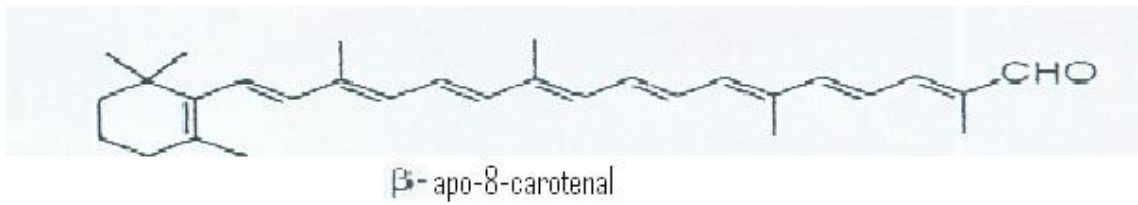
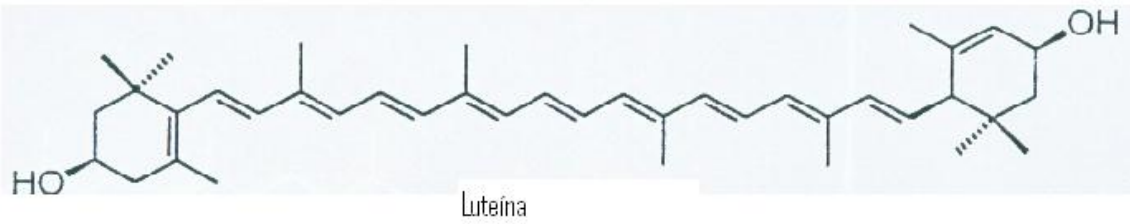
α -caroteno

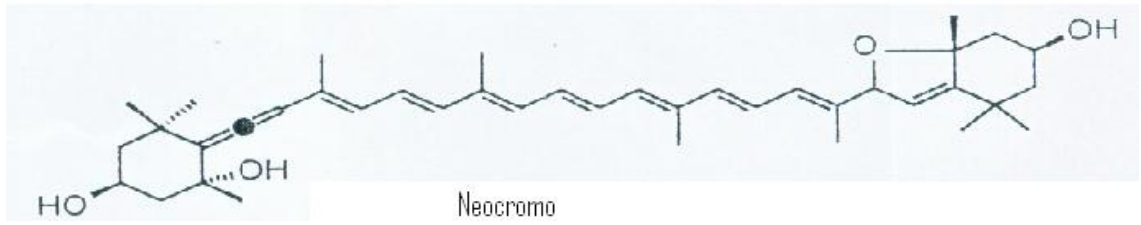
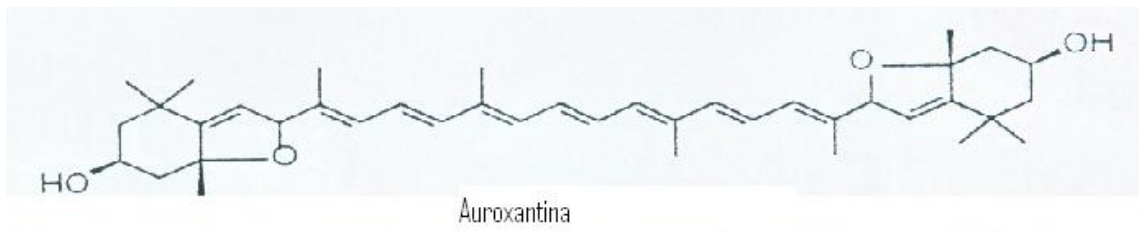
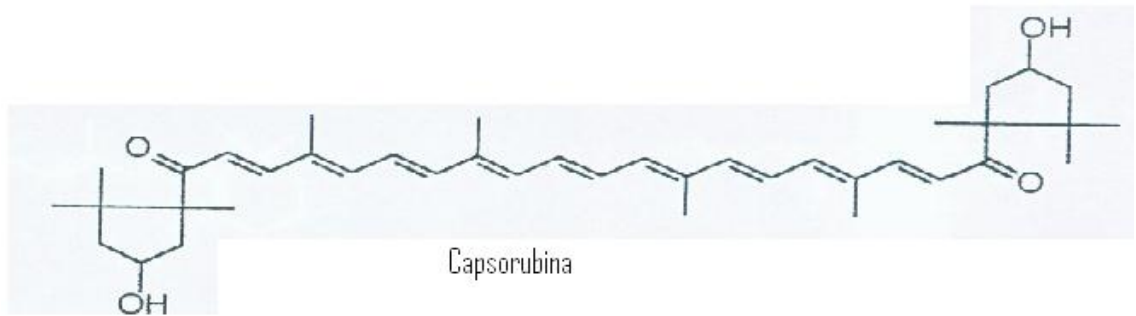


ϵ' caroteno









Fuente: Mínguez, Mosquera. Carotenoids and Provitamin A in Functional Foods. Methods of Analysis for Functional Foods and Nutraceuticals. CRC PRESS. London, 2002.

ANEXO N° 2

ANEXO Nº 2

Secuencia fotográfica de preparación de las muestras para el análisis.



Figura Nº 24. Enjuague de las frutas y verduras



Figura Nº 25. Muestra partida en trozos o triturada para determinación de humedad y determinación de carotenoides totales, respectivamente.

ANEXO N° 3

ANEXO Nº 3

DETERMINACIÓN DE HUMEDAD (Método oficial de la AOAC 920.151).

Materiales

- Cápsula de porcelana
- Desecador, conteniendo material absorbente
- Pinzas para crisol
- Balanza analítica
- Estufa con regulador de temperatura

DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE CAROTENOIDES TOTALES (Talcott y Howard, 1999, descrito por Campos, D. et. al.)

Materiales

- Ampolla de separación.
- Probetas graduadas.
- Balón volumétrico de 100ml
- Pipetas.
- Vasos de precipitado.
- Embudo Buschner
- Espátula
- Papel aluminio
- Papel filtro Whatman poro grueso

Equipo

- Espectrofotómetro UV-VIS Lambda 35, Perkin Elmer.

- Balanza digital OHAUS
- Homogenizador Ultra -Turrax

Reactivos

- Acetona
- Agua
- Etanol
- Hexano

ANEXO N° 4

ANEXO N° 4

Secuencia fotográfica del proceso para la determinación de humedad en las frutas y verduras (Sólidos totales en frutas y productos de frutos. Método oficial de la AOAC 920.151)



Figura N° 26. Pesar 20.0 g de muestra



Figura N° 27. Secar muestra a $70 \pm 2^{\circ}\text{C}$.



Figura N° 28. Sacar muestra del horno y dejar enfriar en desecador.

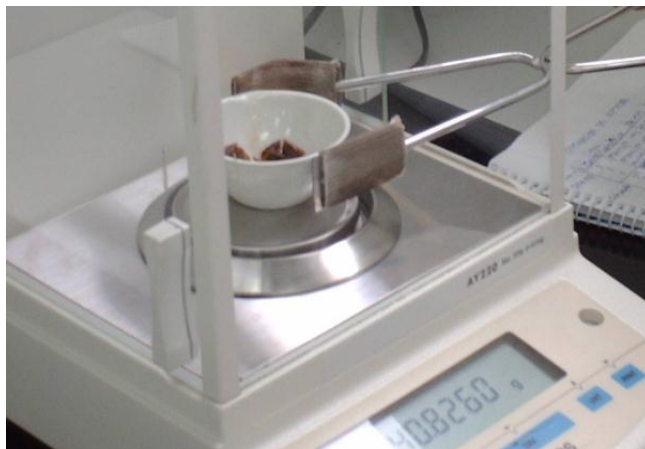


Figura N° 29. Pesar muestra seca.

ANEXO N° 5

ANEXO N° 5

Secuencia fotográfica del proceso para la determinación del contenido de carotenoides totales.



Figura N° 30. Pesar 2.0 g de material vegetal



Figura N° 31. Adición de solvente para carotenoides a la muestra.



Figura N° 32. Homogenizar muestra con el solvente y dejar reposar por 24 horas a $4 \pm 2^\circ\text{C}$.



Figura N° 33. Filtrar la solución al vacío utilizando papel filtro whatman poro grueso



Figura N° 34. Transferir el filtrado a un balón volumétrico de 100 mL y aforar con solvente.



Figura N° 35. Transferir la solución a una ampolla de separación más 50 mL de hexano.



Figura N° 36. Permitir reposar por 30 minutos.



Figura N° 37. Calibrar espectrofotómetro con hexano como blanco.



Figura N° 38. Medir la absorbancia de la fase orgánica.