

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

**DEPARTAMENTO ACÁDEMICO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA E INGENIERÍA
DE ALIMENTOS**



**“EVALUACION DE LA ESTABILIDAD POR PRUEBAS
ACELERADAS, DE PULPA DE AGUAJE (*Mauritia flexuosa* L.f)
LIOFILIZADO VARIEDAD AMARILLO”**

Tesis

Para optar el título de:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

VALLE ROSAS, DAEWED JERRY

PROMOCION 2011 – I

TINGO MARIA - PERU

2014



T

IND

Valle Rosas, Daewed Jerry

“Evaluación de la estabilidad por pruebas aceleradas, de pulpa de aguaje (*Mauritia flexuosa* L.f) liofilizado variedad amarillo” Tingo María 2014.

75 páginas.; 22 cuadros; 15 figuras.; 49 ref.; 30 cm.

Tesis (Ingeniero en Industrias Alimentarias) Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María (Perú). Facultad de Industrias Alimentarias

1- ESTABILIDAD 2- AGUAJE 3- CINÉTICA 4- CAROTENOIDES
5- OXIDACIÓN DE LÍPIDOS 6- OXIDACION FERROSA EN XILENOL
NARANJA (FOX)



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María
FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
Av. Universitaria s/n. Teléfono (062) 561385 – Fax (062) 561156
Apart. Postal 156 Tingo María E.mail; fia@unas.edu.pe

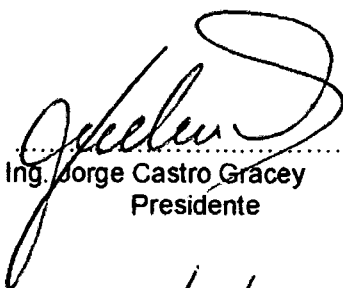
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos en acto público el 02 de enero de 2014, a horas 6:00 p.m. en la Sala de Grados de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicada en la ciudad de Tingo María, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco, para calificar la tesis presentado por el Bach. **VALLE ROSAS, Daewed Jerry**, titulada:

“EVALUACION DE LA ESTABILIDAD POR PRUEBAS ACELERADAS, DE PULPA DE AGUAJE (*Mauritia flexuosa* L.f) LIOFILIZADO VARIEDAD AMARILLO”

Después de haber escuchado la sustentación, las respuestas a las preguntas formuladas, lo declaran **APROBADO** con el calificativo de **EXCELENTE**; en consecuencia el Bachiller, queda apto para recibir el título de **Ingeniero en Industrias Alimentarias** del Consejo Universitario, de conformidad con el Art. 22° de la Ley Universitaria 23733; los artículos 51° y 52° del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 03 de enero de 2014


.....
Ing. Jorge Castro Gracey
Presidente


.....
Ing. Lauriano Zavaleta de La Cruz
Miembro


.....
Ing. Roberto Davila Trujillo
Miembro


.....
Ing. Jaime Basilio Atencio
Asesor

DEDICATORIA

A DIOS sobre todas las cosas por iluminarme, darme sabiduría y fortaleza en cada momento de mi existencia.

A mi abuelito GRIMALDO Q.E.P.D, con mucho cariño por sus enseñanzas y sabios consejos para superarme.

A mis hermanas CANDY y ABIGAIL por su amor y apoyo incondicional en esta etapa de mi vida.

A mí amada madre ISIDORA, mi más profundo agradecimiento y eterna gratitud por sus consejos y esfuerzos para lograr mis sueños.

A mí amada MARIA DE GUADALUPE y mi amado hijo SANTIAGO GAEL quienes constituyen el más grande regalo que DIOS me ha dado y por ser el motivo de mi constante superación.

AGRADECIMIENTO

- A Dios por permitirme llegar a este punto de mi vida, por darme fuerza, paciencia y tranquilidad necesaria para superar los muchos obstáculos que se presentaron en el desarrollo de este proyecto.
- A la Universidad Nacional Agraria de la Selva, por ser el alma mater donde culminé mi carrera profesional.
- A la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias, por haberme formado como profesional.
- A mi familia por su apoyo firme y constante durante estos años, a mi madre quien me inculco la ética, el cariño a Dios. A Candy y Abigail quienes con su cariño de hermanos han sabido estar siempre a mi lado.
- Al Ing. Jaime Eduardo Basilio Atencio asesor de la tesis quien con sus sugerencias, esfuerzo y paciencia, a la par de este documento, dejo plasmadas sus enseñanzas en mi persona.
- A la Ing. María de Guadalupe Díaz Delgado, quien ha sido una gran amiga, compañera y consejera durante toda nuestra vida juntos, y quien me ha brindado su solidaridad en este período de estudios y sobre todo en este proceso de elaboración de tesis
- A todas aquellas personas que directa o indirectamente hicieron posible la culminación del presente trabajo.

INDICE GENERAL

Contenido	Pagina
I. INTRODUCCION	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1 Aspectos de la liofilización.....	2
2.2 Generalidades del aguaje (<i>Mauritia flexuosa</i> L. f.).....	5
2.2.1 Clasificación taxonómica.....	5
2.2.2 Descripción	5
2.2.3 Composición química.....	6
2.2.4 Conservación y Utilización	7
2.3 Carotenoides	7
2.3.1 Propiedades Físicas y Químicas Importantes de los Carotenoides.....	8
2.4 Oxidación de lípidos	9
2.4.1 Mecanismo de la autooxidación.....	10
2.4.2 Factores que favorecen la oxidación.....	12
2.4.3 Determinación analítica de la oxidación de lípidos por el método de oxidación ferrosa en xilenol naranja (FOX).....	12
2.5 Estabilidad y tiempo de vida en anaquel de los alimentos.....	13
2.5.1 Pruebas aceleradas de vida en anaquel.....	13
2.5.2 Cinética de reacciones básicas para predecir la pérdida de calidad en los alimentos.....	14

2.5.3	Orden de reacción.....	15
2.5.4	Efecto de la temperatura en la velocidad de reacción (k)	19
2.5.5	La ecuación de Arrhenius	20
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	22
3.1	Lugar de ejecución	22
3.2	Materia Prima	22
3.3	Materiales, equipos y reactivos.....	23
3.3.1	Materiales	23
3.3.2	Equipos	24
3.3.3	Reactivos	25
3.4	Preparación de soluciones.....	25
3.4.1	Solución indicadora de Xilenol Naranja a 10mM.....	25
3.4.2	Solución cloroformo / metanol 7:3 (v/v).....	25
	En una fiola se mezcló 7 volúmenes de cloroformo con 3 volúmenes de metanol, se agito hasta que se hayan unido. Tiempo de vida útil de la solución 6 días como máximo.	25
3.4.3	Solución de cloruro de Hierro (II)	26
3.4.4	Solución patrón cloruro de hierro (III).....	26
3.5	Metodología experimental	26
3.5.1	Obtención de la pulpa de aguaje.....	26
3.5.2	Liofilización de la pulpa de aguaje	29
3.5.3	Análisis fisicoquímico de la pulpa de aguaje.....	31
3.5.4	Conducción de las pruebas aceleradas de pulpa de aguaje liofilizado	31
3.5.5	Evaluación de los carotenoides totales de pulpa de aguaje liofilizado	32

3.5.6	Obtención del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado ...	33
3.5.7	Evaluación del cambio oxidativo (formación de peróxidos) por el método de oxidación ferrosa en xilenol naranja FOX.....	33
3.5.8	Determinación de los parámetros cinéticos	36
3.5.9	Análisis estadístico.....	37
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	39
4.1	Análisis fisicoquímico de la pulpa de aguaje.....	39
4.2	Análisis fisicoquímico de pulpa de aguaje liofilizado.....	40
4.3	Evaluación de carotenoides totales de pulpa de aguaje liofilizado	42
4.4	Determinación de los parámetros de cinética para la degradación de carotenoides totales.....	45
4.4.1	Determinación del orden de reacción (n) y constante de velocidad de reacción (k)	45
4.4.2	Determinación de la energía de activación (Ea) para la degradación de carotenoides totales utilizando el modelo de Arrhenius.....	49
4.5	Estabilidad de carotenoides totales de pulpa de aguaje liofilizado	51
4.5.1	Simulación de la constante de velocidad de reacción (k) de degradación de carotenoides totales	51
4.5.2	Estimación de la estabilidad de la pulpa de aguaje liofilizado... ..	52
4.6	Evaluación del cambio oxidativo (formación de peróxidos) por el método de oxidación ferrosa en xilenol naranja (FOX).....	53
4.6.1	Curva Estándar	53
4.6.2	Evaluación del cambio oxidativo (formación de peróxidos) por el método FOX en extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado. ..	54

4.6.3	Determinación de los parámetros de cinética para la formación de peróxidos.....	57
4.6.4	Determinación de la energía de activación para la formación de peróxidos utilizando el modelo de Arrhenius.....	61
4.7	Estabilidad de pulpa de aguaje liofilizado en función al cambio oxidativo (Formación de peróxidos) medido por el método FOX.....	63
4.7.1	Simulación de la constante de velocidad de reacción (k) de la formación de peróxidos.....	63
4.7.2	Estimación de la estabilidad de la pulpa de aguaje liofilizado ...	64
V.	CONCLUSIONES.....	66
VI.	RECOMENDACIONES.....	67
VII.	ABSTRACT.....	68
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	69
IX.	ANEXOS.....	75

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Composición química de frutos de aguaje morfotipo amarillo.....	6
2. Contenido de β -caroteno y α -tocoferol de los morfotipos color, amarillo y shambo.....	7
3. Mecanismo de oxidación de lípidos.....	11
4. Ecuaciones para los parámetros de calidad en función del tiempo para diferentes órdenes de reacción (n).....	16
5. Características fisicoquímicas de la pulpa de aguaje.....	39
6. Características fisicoquímicas de la pulpa de aguaje liofilizado.....	40
7. Balance de materia de la obtención de pulpa de aguaje.....	41
8. Balance de materia de la obtención de pulpa de aguaje liofilizado.....	42
9. Variación de carotenoides totales de pulpa de aguaje liofilizado en almacenamiento a diferentes temperaturas.....	43
10. Efecto de la temperatura de almacenamiento en carotenoides totales de pulpa de aguaje liofilizado.....	44
11. Correlación lineal del modelo de (LABUZA, 1993) para órdenes de reacción cero, uno y dos en función a la degradación de carotenoides totales de pulpa de aguaje liofilizado almacenados a diferentes temperaturas.....	47

12. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la velocidad de degradación de carotenoides totales de la pulpa de aguaje liofilizado.....	48
13. Constantes de velocidad de reacción (k) de orden uno de la degradación de carotenoides totales almacenados a diferentes temperaturas acondicionado para el ajuste a la ecuación de Arrhenius linealizada.....	49
14. Constantes de velocidad de reacción (k) de degradación de carotenoides totales simulado a diferentes temperaturas.....	51
15. Estabilidad de la pulpa de aguaje liofilizado almacenado a 20 °C en función a la concentración de carotenoides totales por porcentajes de pérdida.....	52
16. Lecturas de las diferentes alícuotas de hierro III, para la construcción de la curva estándar.....	53
17. Variación del valor de peróxidos en el extracto lipídico de la pulpa de aguaje liofilizado almacenado a diferentes temperaturas.	55
18. Efecto de la temperatura en el cambio oxidativo (Formación de peróxidos) del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado en almacenamiento.	57
19. Correlación lineal del modelo de (LABUZA, 1993) para órdenes de reacción n=0,1 y 2 para la formación de peróxidos del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado almacenado a diferentes temperaturas.....	59
20. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la velocidad de reacción (k) de formación de peróxidos del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado.	60
21. Constantes de velocidad de reacción (k) de formación de peróxidos del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado acondicionado para el ajuste a la ecuación de Arrhenius linealizada.....	61

22. Valores de la constante de velocidad de reacción (k) de formación de peróxidos simulado a diferentes temperaturas.	64
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Los fenómenos físicos de la liofilización representados en el diagrama de fases del agua.....	2
2. Representación de la conversión del β -caroteno en vitamina A.....	9
3. Cinética de oxidación de lípidos.....	10
4. Árbol y frutos maduros de aguaje (<i>Mauritia flexuosa</i> L.f).	22
5. Flujograma para la obtención de pulpa de aguaje.....	27
6. Flujograma para la obtención de pulpa liofilizado de aguaje.....	29
7. Variación de carotenoides totales de pulpa de aguaje liofilizado en almacenamiento a diferentes temperaturas.	45
8. Variación del Ln (Carotenoides totales) de pulpa de aguaje liofilizado en almacenamiento a diferentes temperaturas.	46
9. Variación de 1/(Carotenoides totales) de pulpa de aguaje liofilizado en almacenamiento a diferentes temperaturas	46
10. Relación de las constantes de velocidad de reacción (k) de degradación de carotenoides totales de primer orden con la temperatura, ajustada a la ecuación de Arrhenius linealizada.	50
11. Comportamiento de la curva estándar de alícuotas de hierro III vs absorbancias por el método FOX.....	54

12. Variación del valor de peróxido del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado almacenado a diferentes temperaturas. 58
13. Variación del Ln (valor de peróxidos) del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado almacenado a diferentes temperaturas 58
14. Variación de 1/(valor de peróxidos) del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado almacenado a diferentes temperaturas. 59
15. Relación de la constante de velocidad de reacción (k) de formación de peróxidos del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado de orden cero con la inversa de la temperatura ajustada a la ecuación de Arrhenius. 62

RESUMEN

En la presente investigación el objetivo fue evaluar la estabilidad en almacenamiento de pulpa de aguaje liofilizado mediante pruebas aceleradas, para ello las muestras fueron almacenadas a 25, 40, 50 y 60°C y se evaluó del contenido de carotenoides totales y la formación de peróxidos por el método de oxidación ferrosa en xilenol naranja (FOX) cada 4 y 3 días respectivamente. Los datos experimentales obtenidos fueron ajustados a los modelos de cinética de deterioro propuesto por Labuza (1993) para ordenes de reacción 0, 1, y 2; se aplicó la ecuación de Arrhenius para determinar la energía de activación "Ea" y simular la constante de velocidad de reacción "k". Se determinó un orden de reacción $n=1$, constante de velocidad de reacción $k_{20^{\circ}\text{C}}= 0,001154 \text{ días}^{-1}$ y energía de activación Ea: 18,72 kcal/mol para la cinética del contenido de carotenoides totales comparable a la cinética de degradación de los carotenoides totales liofilizados extraídos del pericarpio de la lechosa (*Carica papaya L*) almacenado a 25°C que siguió un orden de reacción $n=1$. La cinética de formación de peróxidos siguió un orden de reacción $n=0$, constante de velocidad de reacción $k_{20^{\circ}\text{C}}= 0,0207 \text{ meqO}_2/\text{Kg de extracto lipídico} \times \text{días}$ y energía de activación Ea: 18,72kcal/mol, la cual se encuentra dentro del ámbito de las reacciones de oxidación de lípidos. Se simuló la estabilidad a 20°C y se estimó 89 días que para que se degraden 50% de carotenoides totales y 325 días para superar el límite máximo permisible de peróxidos (10 meq O₂/Kg de aceite).

I. INTRODUCCION

El aguaje (*Mauritia flexuosa* L.f), es un fruto de la amazonia peruana de mucha importancia ecológica, social y económica ya que se comercializa y se consume de diversas formas: alimentación directa (fruta), pulpa, refrescos, chupetes, helados, sorbetes, batidos, jugos, yogures y mermeladas.

El aguaje es un fruto estacionario y de difícil conservación por la naturaleza de sus componentes, que generan procesos de oxidación en un tiempo corto, los cuales destruyen vitaminas liposolubles A, D, E, carotenoides y parte de los ácidos grasos esenciales. La principal causa del deterioro de alimentos con contenido lipídicos es la formación y descomposición de los hidroperóxidos, que generan una serie de compuestos oxidados, que determinan el valor sensorial del alimento provocando la disminución de la vida útil.

La liofilización es un proceso que permite conservar las características organolépticas y nutricionales, por tal motivo se plantea estudiar la estabilidad por pruebas aceleradas de la pulpa de aguaje liofilizado, para lo cual se plantearon los siguientes objetivos:

- Evaluar la estabilidad por pruebas aceleradas en almacenamiento de pulpa de aguaje liofilizado.
- Evaluar la estabilidad de carotenoides totales durante el almacenamiento.
- Evaluar el cambio oxidativo del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado durante el almacenamiento.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos de la liofilización

El secado por congelación (liofilización) es un conocido proceso de secado en las industria de alimentos se basa en la sublimación del hielo a partir de un producto congelado a baja temperatura y presión reducida (KASPER *et al.*, 2012). Es un proceso que conserva la actividad biológica de los componentes termosensibles, las propiedades organolépticas y nutricionales del material. El secado por congelación extiende la vida útil de los productos y permite la fabricación de bienes más fáciles de transportar y de almacenar (LOPEZ-QUIROGA *et al.*, 2012) y (ORREGO, 2008).

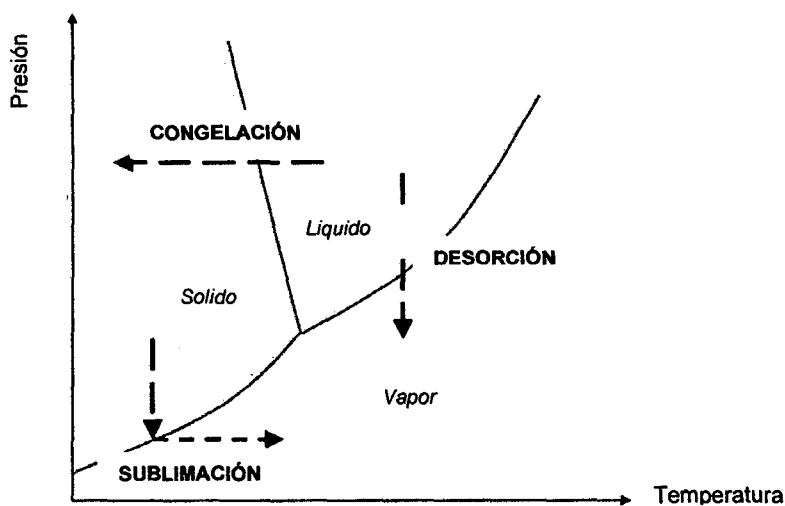


Figura 1. Los fenómenos físicos de la liofilización representados en el diagrama de fases del agua.

Tres etapas pueden ser identificadas en el proceso de secado por congelación completa (LOPEZ-QUIROGA *et al.*, 2012 y ORREGO, 2008). En la que diferentes fenómenos físicos tienen lugar, como se muestra en la figura 1.

La primera etapa (congelación) la mayor parte del agua se formarán cristales de hielo y los solutos se concentran hasta que se cristalizan o se transforman en un sólido amorfo (KASPER *et al.*, 2012). Esto implica una disminución rápida de la temperatura (llegando a valores por debajo del punto triple del agua); con el fin de controlar el crecimiento del tamaño de los cristales de hielo y para evitar posibles daños que puede ser causada en el material (LOPEZ-QUIROGA *et al.*, 2012).

La congelación del material se lleva a cabo en congeladores independientes (separados del equipo liofilizador) o en el mismo equipo. Para ello se trabaja a temperaturas entre -20 y -40°C. Para la optimización de este proceso es fundamental conocer y controlar: La temperatura en la que ocurre la máxima solidificación, la velocidad óptima de enfriamiento y la temperatura mínima de fusión incipiente (CEBALLOS *et al.*, 2012 y RAMIREZ, 1996).

El segundo paso (secado primario), consta de la calefacción de la muestra en condiciones de vacío parcial para obligar a la sublimación del hielo. Para este cambio de fase es necesario reducir la presión en el interior de la cámara, mediante una bomba de vacío, y aplicar calor al producto (calor de sublimación, alrededor de 550 Kcal/Kg en el caso del agua), sin subir la temperatura (RAMIREZ, 1996). Esto solo puede llevarse a cabo cuando la presión de vapor y la temperatura en la superficie del hielo son valores menores a la del punto triple (Punto en el que conviven los tres estados de la materia), ya que por debajo de éste no existe la fase líquida (LOPEZ-QUIROGA *et al.*, 2012; RAMIREZ, 1996). Esto conduce a una interconectada estructura porosa que puede ser posteriormente rehidratada muy

eficazmente preservando al mismo tiempo las características organolépticas y propiedades nutricionales del producto; durante esta etapa (el más largo del ciclo), se sublima casi toda el agua congelada (LOPEZ-QUIROGA *et al.*, 2012 Y ORREGO, 2008).

Para suministrar el calor requerido para la sublimación se dispone de los mecanismos de transferencia de calor: Calor por radiación desde la placa calefactora superior, conducción desde la placa inferior por la delgada película de aire que se forma entre el recipiente de la muestra y la placa y/o desde el fondo de la bandeja o vial y la pared de este recipiente y, también por conducción, a través de la capa seca del material hasta la interfase sólida (ORREGO, 2008).

Durante el proceso el hielo sublima desde la superficie del producto y a medida que avanza el proceso, el nivel de sublimación retrocede dentro de él, teniendo entonces que pasar el vapor por capas ya secas para salir del producto. Este vapor, se recoge en la superficie del condensador, el cual debe tener suficiente capacidad de enfriamiento para condensarlo todo, a una temperatura inferior a la del producto (RAMIREZ, 1996).

El último pasó (secado secundario), es un proceso en el que el agua sigue siendo limitada a la matriz porosa, es desorbido mediante el aumento de la temperatura de la matriz del alimento. (LOPEZ-QUIROGA *et al.*, 2012 y ORREGO, 2008). Las partes secas de la muestra que se liofiliza pueden comenzar su secado secundario aunque haya presencia en el alimento de hielo que sublima en la fase primaria; mientras estas dos fases coexistan, y debido que el hielo que sublima enfría la estructura, permanece controlada la temperatura del alimento. Cuando desaparece la última porción de hielo se presenta un incremento de la temperatura (ORREGO, 2008).

2.2 Generalidades del aguaje (*Mauritia flexuosa* L. f.)

2.2.1 Clasificación taxonómica

La clasificación taxonomía del aguaje es la siguiente:

Reino	: Vegetal
División	: Fanerógamas
Clase	: Monocotiledónea
Sub clase	: Liliopsida
Orden	: Arecales
Familia	: Arecaceae
Sub Familia	: Calamaoideae
Género	: <i>Mauritia</i>
Especie	: <i>flexuosa</i>
Nombre científico	: <i>Mauritia flexuosa</i> L. f.
Nombre Común	: Aguaje, achual (Perú); caranday-guazu, ideuí (Bolivia); buriti, miriti (Brasil); canangucha, moriche, aguaje, mirití (Colombia).

(NAVARRO, 2006).

2.2.2 Descripción

El aguaje es una palmera que tiene amplia distribución en América del Sur, crece principalmente en territorios mal drenados junto a otras especies de palmeras, en estado natural logra alcanzar hasta 40 metros de altura y llega a su primera fructificación a la edad vegetativa de ocho años (VILLACHICA, 1996). El fruto es una drupa, de forma elíptica, longitud entre 5 - 7 cm y diámetro entre 4 - 5 cm. El epicarpio (cáscara) es escamoso, de color rojo vino o rojo oscuro. El mesocarpio, la única parte comestible, de 4 a 6 mm de espesor, es suave, sabor agridulce y de color amarillo,

naranja a naranja-rojizo y representa solamente 12 a 13% del peso seco del fruto. El endocarpio (cobertura de la semilla) es suave, rico en celulosa y pobremente diferenciado (VILLACHICA, 1996). Se reconocen hasta tres tipos de aguaje por el color de sus frutos; "amarillo" cuando todo el mesocarpio es amarillo, "color" cuando la parte externa del mesocarpio es anaranjado y el interior amarillo y "shambo" cuando todo el mesocarpio es anaranjado. Todos presentan diferencias en cuanto al tamaño, forma del fruto, textura y sabor del mesocarpio (NAVARRO, 2006).

2.2.3 Composición química

En el cuadro 1, se presenta la composición química de frutos de aguaje de la variedad amarillo.

Cuadro 1. Composición química de frutos de aguaje morfotipo amarillo.

Composición	(g/100g)
Humedad	62,85
Cenizas	2,94
Aceite	22,80
Proteínas	3,90
Carbohidratos	7,51
°Brix	15,33

Fuente: (VÁSQUEZ *et al.*, 2009).

Posee alto contenido de lípidos 22,8 g/100g, es mayor que los reportados para lípidos de mesocarpios de frutos oleaginosos como la palta (*Persea americana Mill*) que contiene 8,40% (VÁSQUEZ *et al.*, 2009).

Cuadro 2. Contenido de β -caroteno y α -tocoferol de los morfotipos color, amarillo y shambo.

Morfotipos	β -caroteno (ug/g)	α -tocoferol (mg/L)
Amarillo	324,42	683,35
Color	264,60	685,80
Shambo	283,47	677,58

Fuente: (VÁSQUEZ *et al.*, 2009).

2.2.4 Conservación y Utilización

Los frutos del aguaje son perecibles, cuando están maduros, después de la cosecha pueden conservarse sin deterioro hasta 7 días; el mesocarpio preparado en pasta puede conservarse por refrigeración o congelación (NAVARRO, 2006).

El principal uso es en alimentación humana consumida como fruto, del mesocarpio se elaboran chupetes, helados, mermeladas y yogures. Las bebidas de aguaje se preparan diluyendo el mesocarpio, en agua con azúcar o sometiendo a fermentación; el mesocarpio también puede deshidratarse y reconstituirse para bebidas. Otros son harinas y aceite (LUJAN, 2010).

2.3 Carotenoides

Los carotenoides, son los pigmentos responsables de la mayoría de los colores amarillos, anaranjados y rojos de frutos y verduras, debido a la presencia en su molécula de un cromóforo consistente, total o principalmente en una cadena de dobles enlaces conjugados. Están presentes en todos los tejidos fotosintéticos, junto con las clorofilas, así como, en tejidos vegetales no fotosintéticos, como componentes de cromoplastos, que pueden ser considerados cloroplastos degenerados (MURRAY *et al.*, 2007).

2.3.1 Propiedades Físicas y Químicas Importantes de los Carotenoides

Químicamente, los carotenoides son terpenoides, formados básicamente, por ocho unidades de isoprenos, de tal forma, que la unión de cada unidad se invierte en el centro de la molécula. Dentro de los carotenoides podemos distinguir dos grupos: los carotenos, que son hidrocarburos, y las xantofilas, que poseen oxígeno en su molécula (RODRIGUEZ - AMAYA, 1999).

Son solubles en lípidos y solventes no polares, se extraen fácilmente con solventes no polares, son sensibles a la luz y oxígeno, su degradación se acelera por los radicales libres que se forman en la oxidación lipídica. Presentan importante inestabilidad química, susceptibilidad a la oxidación e isomerización geométrica (MORENO *et al.*, 2003).

Algunas de las diferencias observadas como resultado de la reacción de isomerización *trans* a *cis* incluyen disminución en la intensidad del color, puntos de fusión más bajos, coeficiente de extinción más pequeños y la aparición de un nuevo máximo en el espectro ultravioleta. La disminución del color es de máxima importancia porque se percibe que también disminuye la calidad (NGUYEN Y SCHWARTZ, 1999).

La oxidación, la causa principal de las pérdidas de carotenoides, depende del oxígeno disponible, los carotenoides involucrados y su condición física. La luz, el calor, los metales, las enzimas y los peróxidos estimulan la oxidación que es inhibida por los antioxidantes tales como tocoferoles (vitamina E) y ácido ascórbico (vitamina C). En cambio, la congelación, la adición de antioxidantes y la exclusión del oxígeno (vacío, envases impermeables al oxígeno, atmósfera inerte) disminuyen las pérdidas durante el procesado y almacenamiento de los alimentos (RODRIGUEZ - AMAYA, 1999).

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 (RODRIGUEZ - AMAYA, 1999).

La provitamina A más importante es el β -caroteno tanto en términos de bioactividad como de amplia ocurrencia. Estructuralmente, la vitamina A es esencialmente la mitad de la molécula de β -caroteno con una molécula adicional de agua en el extremo de la cadena lateral. Así, el β -caroteno es una potente provitamina A, a la cual se le asigna un 100% de actividad (RODRIGUEZ - AMAYA, 1999).

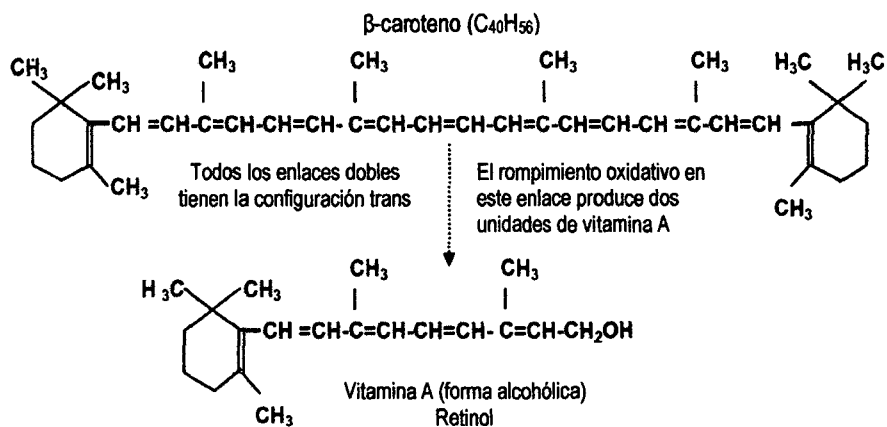


Figura 2. Representación de la conversión del β -caroteno en vitamina A.

2.4 Oxidación de lípidos

La oxidación lipídica es uno de los mecanismos responsables de la degradación de los lípidos y de la alteración de los productos que los contienen (FRANKEL, 1998). Produce profundas preocupaciones económicas en la industria alimentaria, porque da lugar a la aparición de sabores y olores anómalos, generalmente denominados "rancios" (enranciamiento oxidativo), en los alimentos que contienen grasas, deteriorando su calidad organoléptica (FENNEMA, 2000).

La oxidación de lípidos por (Vía no enzimática) puede tener dos mecanismos la autooxidación con la participación del oxígeno triplete ($^3\text{O}_2$ estado fundamental y más estable del oxígeno) y la fotooxidación, con la participación del oxígeno singulete ($^1\text{O}_2$ estado excitado y más reactivo del oxígeno). Aunque ambos mecanismos pueden tener acción de forma simultanea la autooxidación es la más habitual y es la responsable primera de la alteración de las características nutritivas y sensoriales de los alimentos (TRES, 2009).

2.4.1 Mecanismo de la autooxidación

La autooxidación de los lípidos ocurre fundamentalmente debido a los ácidos grasos insaturados a través de una serie de reacciones en cadena de radicales libres, que tiene las fases de iniciación, propagación y terminación. Estas etapas constan a menudo de complejas cadenas de reacciones como se muestra en la figura 1 (FENNEMA, 2000).

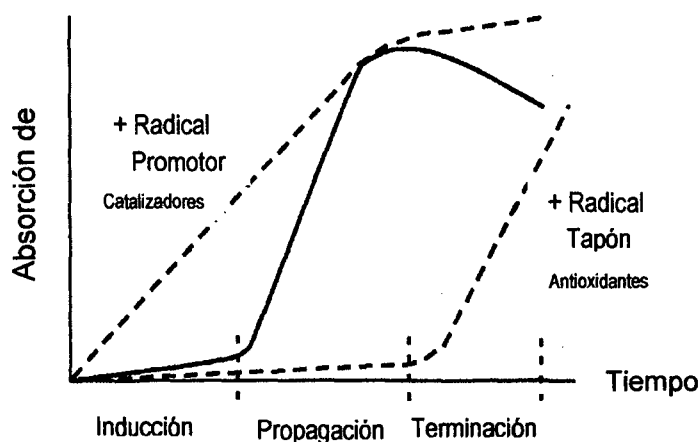


Figura 3. Cinética de oxidación de lípidos.

En la etapa de iniciación el radical lipídico L^{\bullet} se forma a partir del lípido (LH), por el ataque de radicales, luz, calor, irradiaciones o por trazas de metales. El radical lipídico (L^{\bullet}) formado reacciona rápidamente con oxígeno molecular para dar

un radical peroxilo (LOO^\bullet), el cual ataca otra molécula de lípido (LH) y sustrae un átomo de hidrogeno para formar un hidroperóxido lipídico (LOOH), y un nuevo radical lipídico, que inicia de nuevo la secuencia de propagación. De este modo, muchas moléculas de lípidos pueden ser oxidadas hasta hidroperóxidos por muchas formas de iniciación. El ciclo de propagación es interrumpido por las reacciones de terminación, en las cuales hay consumo de los radicales. Las interacciones biomoleculares de radicales libres originan productos no-radicales muy estables. La autooxidación sin antioxidantes se resume a continuación (WROLSTAD *et al.*, 2005 y ROJANO *et al.*, 2008).

Cuadro 3. Mecanismo de oxidación de lípidos

Etapa	Reacción	Productos
Iniciación:	$\text{LH} \rightarrow \text{L}^\bullet + \text{H}^\bullet$	Radical libre
Propagación:	$\text{L}^\bullet + \text{O}_2 \rightarrow \text{LOO}^\bullet$	Radical de hidroperóxido
	$\text{LOO}^\bullet + \text{LH} \rightarrow \text{L} + \text{LOOH}^\bullet$	Hidroperóxido
Terminación:	$\text{L}^\bullet + \text{L}^\bullet \rightarrow \text{LL}$	
	$\text{L}^\bullet + \text{LOO}^\bullet \rightarrow \text{LOOL}$	
	$\text{LOO}^\bullet + \text{LOOL} \rightarrow \text{LOOL} + \text{O}_2$	
	$\text{LO} + \text{L}^\bullet \rightarrow \text{LOL}$	
	$2\text{LO} + 2\text{LOO}^\bullet \rightarrow 2\text{LOOL} + \text{O}_2$	

Fuente: ROJANO *et al.*, 2008.

En los alimentos con alto contenido de lípidos, la etapa más importante es la formación y descomposición de los hidroperóxidos, que generan una serie de compuestos oxidados como cetonas, aldehídos, alcanos y alquenos de bajo peso molecular y de alta volatilidad, que determinan el valor sensorial del alimento. Este

fenómeno se denomina rancidez. Los antioxidantes pueden retardar la rancidez, pero nunca la detienen, porque la oxidación ocurre a bajas presiones de oxígeno y se hace inevitable, a pesar del uso de todas las metodologías de conservación, como frío, escaldado y empaque (ROJANO *et al.*, 2008).

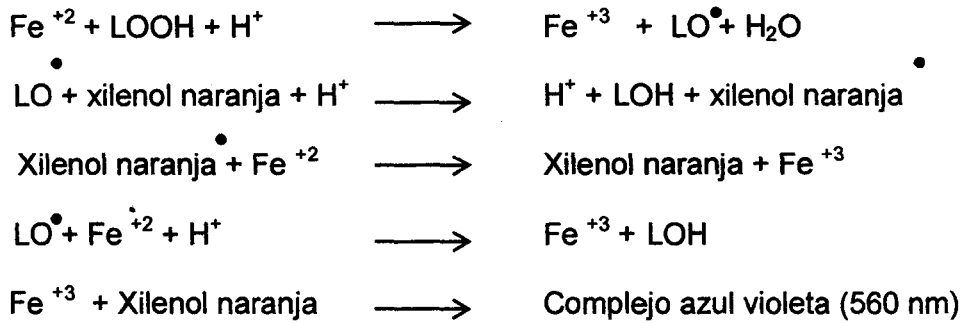
2.4.2 Factores que favorecen la oxidación

Los mecanismos y los diversos factores que afectan la autooxidación. entre ellos: el número total de enlaces insaturados en la muestra, en especial el grado de insaturación de cada molécula; la presencia de oxígeno; la presencia de la radiación luminosa desde la región ultravioleta hasta la infrarroja. En especial la luz ultravioleta (UV) favorece la reacción, al igual que la temperatura; La humedad parece prevenir o inhibir la reacción; trazas de varios metales, en especial el cobre y hierro, actúan como prooxidantes (FRANKEL, 1998),

2.4.3 Determinación analítica de la oxidación de lípidos por el método de oxidación ferrosa en xilenol naranja (FOX)

El método de oxidación ferrosa en xilenol naranja o método FOX, es una determinación en medio ácido, basada en la oxidación del Fe II a Fe III por reacción con los peróxidos lipídicos y posteriormente la formación de un complejo (Fe III – xilenol naranja), que origina un color púrpura y que presenta un máximo de absorbancia entre 560-590 nm (WROLSTAD *et al.*, 2005 y ROJANO *et al.*, 2008).

La estequiometría no es exactamente conocida, algunos autores indican que 3 moles del complejo [Fe III - Xilenol Naranja] son formados a partir de un mol de peróxido. Sin embargo, la estequiometría determinado experimentalmente de 3 moles del complejo Fe^{+3} - naranja de xilenol se produce a partir de 1 mol de peróxido no puede ser explicado por el mecanismo (NOUROOZ-ZADEH, 1995).



(SOCHOR *et al.*, 2012).

2.5 Estabilidad y tiempo de vida en anaquel de los alimentos

La estabilidad de un alimento se refiere al nivel de calidad que este debe mantener para que sea aceptado por el consumidor. Mediante las pruebas aceleradas se puede estimar el tiempo en que pierde dicha estabilidad. La calidad y seguridad de un alimento que un fabricante debe tener en cuenta son la estabilidad microbiana, las propiedades físicas y la velocidad de los cambios químicos que conducen a la pérdida de vida útil (LABUZA Y HYMAN, 1998).

2.5.1 Pruebas aceleradas de vida en anaquel

Consisten en experimentos de almacenamiento a temperaturas relativamente altas, con el fin de predecir, con un cierto margen de certidumbre, la vida en anaquel del alimento en un período de tiempo mucho más corto que con métodos tradicionales (LABUZA Y SCHMIDL, 1985).

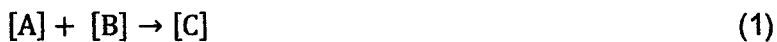
La predicción de tiempo en que se mantiene estable la calidad de un alimento depende de ciertos factores físicos los cuales varían en función del tiempo en la distribución, la temperatura ha sido un factor más estudiado (LABUZA Y HYMAN, 1998).

2.5.2 Cinética de reacciones básicas para predecir la pérdida de calidad en los alimentos

La cinética química involucra el estudio de la velocidad y mecanismo por el cual una especie química se convierte en otro. La velocidad de reacción es la variación por la unidad del tiempo de la concentración de un reactante o de un producto; depende de la concentración de los reactantes y, en algunos casos especiales, de los productos; es de esperar que al avanzar la reacción y modificarse las concentraciones, varíe la velocidad. Por lo tanto, conviene referirse a la velocidad instantáneas, es decir en intervalos de tiempo infinitamente pequeños (SINGH, 1996).

Esto requiere definir la velocidad de reacción como derivada de la concentración respecto al tiempo.

Dado una transformación química:



La velocidad de reacción será:

$$V = -\frac{d[A]}{dt} = -\frac{d[B]}{dt} = \frac{d[C]}{dt} \quad (2)$$

El signo negativo indica que la concentración de los reactantes [A] y [B] decrece al transcurrir el tiempo; por el contrario, el signo de la velocidad será positivo respecto al producto de la reacción [C], pues su concentración aumenta con el incremento del tiempo.

En muchos casos se ha determinado en forma experimental que la velocidad de reacción se ajusta a una expresión matemática del tipo:

$$V = k[A]^i[B]^j \quad (3)$$

Para el caso de reacciones de un solo reactivo y de orden n, la expresión de la velocidad de reacción puede ser escrita:

$$-\frac{d[A]}{dt} = k[A]^n \quad (4)$$

(SINGH, 1996).

El concepto de reacción puede ser extendida a la pérdida de calidad para muchos alimentos, y también puede ser representada por una ecuación matemática de la forma siguiente

$$\pm \frac{d[A]}{d\theta} = k[A]^n \quad (5)$$

Dónde:

A: Factor de calidad a medir

θ : Tiempo

k: Constante que especialmente depende de la temperatura y actividad de agua.

n: Factor de potencia llamado "orden de reacción", el cual define si la velocidad es dependiente de la cantidad presente de A.

$\pm \frac{d[A]}{d\theta}$: Velocidad de cambio de A con respecto al tiempo.

El signo negativo es utilizado si el deterioro es una pérdida o destrucción de A (Un nutriente o un aroma) y un signo positivo señala la producción de un producto final indeseable (Formación de peróxidos, coloración). Usualmente los resultados de estos estudios para predecir la pérdida de calidad no son obtenidos como una velocidad sino más bien como la cantidad de A como una función del tiempo. Así para obtener la velocidad de deterioro, uno debe transformar los datos mediante un gráfico cinético (LABUZA Y RIBOH, 1982 y LABUZA, 1993).

2.5.3 Orden de reacción

Es sumamente complejo reconocer un sistema alimentario con respecto a las pérdidas de calidad, lo cual es representado por la pérdida de un factor

deseable (ejemplo, carotenoides). Las velocidades de pérdidas de A, r_A y de formación de B, r_B son dadas por las ecuaciones siguientes

$$r_A = -d \frac{d[A]}{dt} = k[A]^n \quad (6)$$

$$r_B = -d \frac{d[B]}{dt} = k'[B]^{n'} \quad (7)$$

El factor de [A] y [B] pueden medirse como un parámetro químico, físico, microbiológico o sensorial. k y k' son las constantes de velocidad de reacción y n y n' las ordenes de reacción. La reacción aparente y las constantes son determinadas por ajustes de los datos medibles de [A] o [B] con el tiempo para las ecuaciones (6) y (7). Las ecuaciones de velocidad que permiten resolver analíticamente la expresión de la concentración de A o B están en función del tiempo. La forma de estas funciones para diferentes órdenes de reacción se muestra en el cuadro 4 (LABUZA, 1993).

Cuadro 4. Ecuaciones para los parámetros de calidad en función del tiempo para diferentes órdenes de reacción (n)

Orden de reacción (n)	Ecuación para A	Ecuación para B
0	$A_0 - A = kt$	$B_0 - B = kt$
1	$\ln \left(\frac{A_0}{A} \right) = kt$	$\ln \left(\frac{B_0}{B} \right) = kt$
$n-1$	$\frac{1}{A^{n-1}} - \frac{1}{A_0^{n-1}} = (n-1)kt$	$\frac{1}{B^{n-1}} - \frac{1}{B_0^{n-1}} = (n-1)kt$

Fuente: LABUZA (1993).

Para determinar el orden de reacción aparente se asume diferentes valores de n (0, 1 y más) y se prueba con un ajuste lineal a las ecuaciones correspondientes con los datos experimentales. Si el experimento se ha llevado a cabo por lo menos 50% de conversión y preferentemente 75% es normalmente fácil

determinar qué orden de la reacción da mejor ajuste, el coeficiente de determinación (R^2) de la regresión lineal es en la mayoría de los casos un criterio suficiente.

Una vez que el orden aparente de reacción de deterioro de la calidad se ha determinado, más allá del análisis estadístico del parámetro k , la constante de velocidad se requiere para conseguir una estimación del error en la determinación de k y la vida en anaquel (LABUZA, 1993).

Orden cero

Considerando un atributo de calidad A , que disminuye durante el periodo de almacenamiento. Un examen más íntimo del ploteo lineal implica que la velocidad de pérdida de un atributo de calidad es constante a lo largo del periodo de almacenamiento y no depende de la concentración de A TORRES (2003). Esta asunción se ha usado ampliamente en la literatura de la ciencia de los alimentos. Este ploteo lineal representa una reacción del orden cero y sustituye $n = 0$ por consiguiente en la ecuación (7), se tiene:

$$-\frac{dA}{dt} = k \quad (8)$$

La ecuación (8) al integrarse resulta:

$$A = A_0 - kt_s \quad (9)$$

Donde A_0 representa algún valor inicial de un atributo de calidad y A es la cantidad de ese atributo después del tiempo t .

Si al final de la vida anaquel, t_s es denotado por el atributo de calidad que alcanza en un cierto nivel A_e , entonces:

$$A_e = A_0 - kt_s \quad (10)$$

Por consiguiente, la vida en anaquel t_s , puede calcularse como:

$$t_s = \frac{A_0 - A_e}{k} \quad (11)$$

El ploteo de la pérdida de calidad versus el tiempo es lineal en coordenadas cartesianas ($n = 0$), donde el valor de k es la pendiente (LABUZA Y RIBOH, 1982).

Primer orden

La pérdida de calidad en muchos casos no sigue una velocidad constante de degradación. Muchos alimentos siguen un deterioro de un modelo donde $n = 1$, que resulta en un decremento exponencial en la velocidad de pérdida como calidad decreciente. Esto no significa que la vida en anaquel de alimentos que siguen este diseño es más larga que la de aquellos con una velocidad constante; desde que el valor de la constante de velocidad k es diferente.

Matemáticamente para $n = 1$ o una reacción de primer orden, la velocidad de pérdida se denota como la ecuación 12

$$-\frac{dA}{dt} = kA \quad (12)$$

Integrando resulta:

$$\ln \left[\frac{A}{A_0} \right] = -kt \quad (13)$$

Dónde A es la cantidad del atributo de calidad dado al tiempo t . Al final de la vida en anaquel t_s para un cierto nivel final de atributo de calidad A_e también se puede escribir la ecuación (13) como:

$$\ln \left[\frac{A_0}{A_s} \right] = -kts \quad (14)$$

O también:

$$ts = \frac{\ln \left[\frac{A_0}{A_e} \right]}{k} \quad (15)$$

A veces, es deseable conocer el tiempo de vida media de una reacción. Para obtener el tiempo de vida media, la ecuación (15) puede ser modificada sustituyendo $A_e = 0,5 A$.

Otra manera de representar el deterioro exponencial es planteando la pérdida de calidad versus tiempo es sobre un papel semilogarítmico tal como se muestra en la ecuación 16.

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{0,693}{k} \quad (16)$$

(LABUZA Y RIBOH, 1982)

Al conocer el orden de la reacción, se puede extrapolar, mediante representaciones gráficas correctas, a los valores máximos permitidos de los índices ensayados al término fijado de su vida útil (FENNEMA, 2000).

Otras órdenes

Existen muy pocos datos para describir la degradación de alimentos por otros órdenes diferentes de cero o primer orden. La degradación de la vitamina C en alimentos líquidos como jugos de tomates o formulas envasadas para infantes, con tipo de deterioro de segundo orden pendiente (LABUZA Y RIBOH, 1982).

2.5.4 Efecto de la temperatura en la velocidad de reacción (k)

Las ecuaciones cinéticas de la vida en anaquel son específicas para el alimento estudiado y las condiciones ambientales empleadas. De los factores no composicionales que llegan a afectar las reacciones, como la temperatura, humedad relativa, presión parcial de los gases envasados, luz y tensiones mecánicas, el único normalmente incorporado a los modelos de vida en anaquel es la temperatura FENNEMA (2000).

Esta afecta intensamente a las velocidades de reacción y es el único factor entre los mencionados que no es afectado por el tipo de material de empaque del alimento. Los análisis matemáticos anteriores de pérdida de calidad asumen una temperatura constante (LABUZA y RIBOH, 1982).

Generalmente la velocidad de reacción se incrementa conforme la temperatura aumenta. El más prevalente y ampliamente usado es la ecuación de Arrhenius (LABUZA Y SCHMIDL, 1985).

2.5.5 La ecuación de Arrhenius

La ecuación de Arrhenius expresa la influencia de la temperatura en la velocidad de reacción en los estudios de vida útil de los alimentos (LABUZA Y RIBOH, 1982).

Si se tiene en cuenta esta ecuación, junto con las expresiones cinéticas de los distintos órdenes de reacción, se puede construir un modelo cinético-matemático que describa el deterioro de un alimento durante su almacenamiento, teniendo en cuenta la influencia que ejerce la temperatura sobre los distintos procesos de deterioro (SAGUY Y KAREL, 1980).

El desarrollo de estos modelos permite la obtención de energías de activación de procesos concretos de deterioro a partir de valores experimentales de parámetros indicadores de estos procesos. Estos datos permiten la estimación de los tiempos de vida útil a diferentes temperaturas de almacenamiento (LABUZA Y RIBOH, 1982).

$$k = k_0 e^{\frac{Ea}{RT}} \quad (17)$$

Dónde:

k : Constante de velocidad de reacción

k₀: Factor pre-exponencial

Ea: Energía de activación (cal / mol)

R : Constante de gases ideales (1,987 cal / mol °K)

La ecuación de Arrhenius enuncia que un ploteo del logaritmo neperiano de la constante de velocidad de reacción ($\ln k$) versus la reciproca de la temperatura absoluta ($1/T$) genera una línea recta cuya pendiente es la energía de activación dividida entre las constante de las gases R y al conocer el valor de la pendiente podemos obtener el valor de la energía de activación para dicha recta y mediante la regresión lineal se podrá obtener el valor de la constante pre-exponencial (LABUZA y RIBOH, 1982).

Una energía de activación pequeña significa poca pendiente en la representación de Arrhenius y que la reacción es tan rápida que poca aceleración o activación se logra elevando la temperatura, Por el contrario, una energía de activación grande significa una reacción lenta, gran pendiente en la representación tipo Arrhenius, y que por tanto se activara sustancialmente al elevar la temperatura (GONZALES, 2001).

Una pendiente excesiva significa que la reacción es más dependiente de la temperatura; es decir, a medida que la temperatura se incrementa, la reacción aumenta a una velocidad mayor (LABUZA y RIBOH, 1982).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de ejecución

Se ejecutó en los laboratorios de Ingeniería de Alimentos y Análisis de Alimentos de la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias. En el Centro de Investigación para el desarrollo Biotecnológico de la Amazonía - CIDBAM de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS); ubicada en el Distrito de Rupa Rupa, Provincia de Leoncio Prado, Región Huánuco; a una altitud de 660 m.s.n.m. a 09° 17' 08" de Latitud Sur, a 75° 59' 52" de Latitud Oeste, con clima tropical húmedo y con una humedad relativa media de 84% y temperatura media de 25 °C.

3.2 Materia Prima

El aguaje (*Mauritia flexuosa* L.), variedad amarillo, se obtuvo de la localidad de Uchiza, provincia de Tocache, región San Martín.



Figura 4. Árbol y frutos maduros de aguaje (*Mauritia flexuosa* L.f).

3.3 Materiales, equipos y reactivos

3.3.1 Materiales

- Matraces (100 ml). Kimax USA.
- Probetas (10, 50, 100 ml). Brand Germany.
- Vasos precipitados (100, 200, 500 ml). Kimax USA.
- Pipeta (10 ml). Pyrex USA.
- Embudos. Giardino ITALY
- Fiolas (100ml). Schot GERMANY
- Balones digestores. Pirex MEXICO.
- Vasos de precipitación (50, 100 ml). Pyrex USA.
- Tubos de ensayo .Pyrex USA.
- Cubetas de vidrio (1cm x 1cm x 3.5cm).
- Tips (50 - 1000 μ L). FISHERBRAND®
- Balón de fondo redondo 250 ml. Buchi Germany.
- Papel filtro Munktell ab N° 40.
- Termómetros (0 – 120 °C).
- Micropipeta (20 – 200 μ L, 100 a 1000 μ L). Accumax
- Cocina doméstica a gas. Electrolux
- Placas petri. Kimax USA.
- Espátulas.
- Crisoles. Kimax USA.
- Ollas, rena ware USA.
- Bandejas de plástico.
- Gradillas.

3.3.2 Equipos

- Liofilizador LABOTEC, modelo 01JLG/12Fd, serie 254.23.10. South África.
- Estufa TOMOS, ODHG 9076 A, Heating Drying Oven.
- Estufa TOMOS, ODHG 9076 A, Heating Drying Oven.
- Estufa TOMOS, ODHG 9076 A, Heating Drying Oven.
- Congeladora ULTRA FREEZER hasta - 40°C.
- Espectrofotómetro uv-visible. GENESYS 6. Termo Spectronic N° SG8100405.
- Rotavapor R-200. Büchi Germany
- Homogenizador VORTEX GENIE – 2. Scientific industrias SITM.
- Agitador orbital de bandeja BAMSTEAD. Modelo Max Q2000. Internacional Lab-Line. USA.
- Balanza analítica ADAM, modelo pw 254 de 0 - 250 g de cap. D = 0,0001 g.
- Balanza analítica DIGITAL PRECISSION, modelo ESJ 210 - 4. capacidad máxima 210 g.
- Potenciómetro. Mettler toledo.
- Selladora WI.
- Mufla
- Equipo de extracción SOXHLET
- Digestor eléctrico KJELDAHL. Labconco
- Destilador modelo D 7036

3.3.3 Reactivos

- Éter de petróleo. Merck Peruana S.A.
- Hidróxido de sodio (NaOH) en lentejas p.a. ISO. Merck. Germany.
- Sulfato ferroso heptahidratado ACS. Fermont, Mexico.
- Cloruro de bario dihidratado. Riedel de haen ag. Hannover
- Cloruro de hierro. Riedel de haen ag. Hannover
- Peroxido de hidrogeno al 30% (w/w). Sigma Aldrich
- Ácido sulfúrico 95 – 97 % p.a. Merck. Germany.
Ácido clorhídrico 37%. Sigma Aldrich
- Metanol 96 %. Induquímica.
- Bencina de petróleo (0 - 40 °C). Merck peruana S.A.
- Cloroformo ACS. Merck peruana S.A.
- Anaranjado de xilenol. Merck peruana S.A.

3.4 Preparación de soluciones

3.4.1 Solución indicadora de Xilenol Naranja a 10mM

Se pesó 0,0760 g xilenol naranja, se disolvió en agua destilada y se aforo a 10 ml en una fiola de color ámbar, se almaceno lejos del alcance de la luz solar.

3.4.2 Solución cloroformo / metanol 7:3 (v/v)

En una fiola se mezcló 7 volúmenes de cloroformo con 3 volúmenes de metanol, se agito hasta que se haya unido. El tiempo de vida útil de la solución es 6 días como máximo.

3.4.3 Solución de cloruro de Hierro (II)

Se disolvió 0,5 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en 50 ml de agua. En un matraz por separado, se disolvió 0,4 g $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en 50 ml de agua. Se agregó lentamente la solución de cloruro de bario a la solución de sulfato de hierro con agitación constante, luego se adiciono 2 ml de HCl 10M. Se eliminó por filtración el sulfato de bario precipitado por gravedad mediante papel de filtro N° 40. Se almaceno en frasco ámbar en la oscuridad a temperatura ambiente menor a 30 días.

3.4.4 Solución patrón cloruro de hierro (III)

Se disolvió 0,5 g FeCl_3 en 50 ml de HCl 10 M, se añadió 1 a 2 ml de H_2O_2 al 30% (w/w). Se hirvió por 5 minutos para eliminar el exceso de H_2O_2 y se enfrió a temperatura ambiente. Se diluyo hasta 500 ml con agua destilada, se transfirió 1 ml a un fiola aforada de 100 ml. Se diluyo hasta la marca con solución cloroformo/metanol (7:3). Se almaceno en frasco ámbar la solución final (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ FeCl_3) máximo por 3 semanas a temperatura ambiente.

3.5 Metodología experimental

3.5.1 Obtención de la pulpa de aguaje

La pulpa de aguaje se obtuvo siguiendo las operaciones indicadas en la Figura 5.

Los parámetros físicos utilizados para el desarrollo de este trabajo han sido tomados de la literatura (GUERRERO *et al.*, 2011).

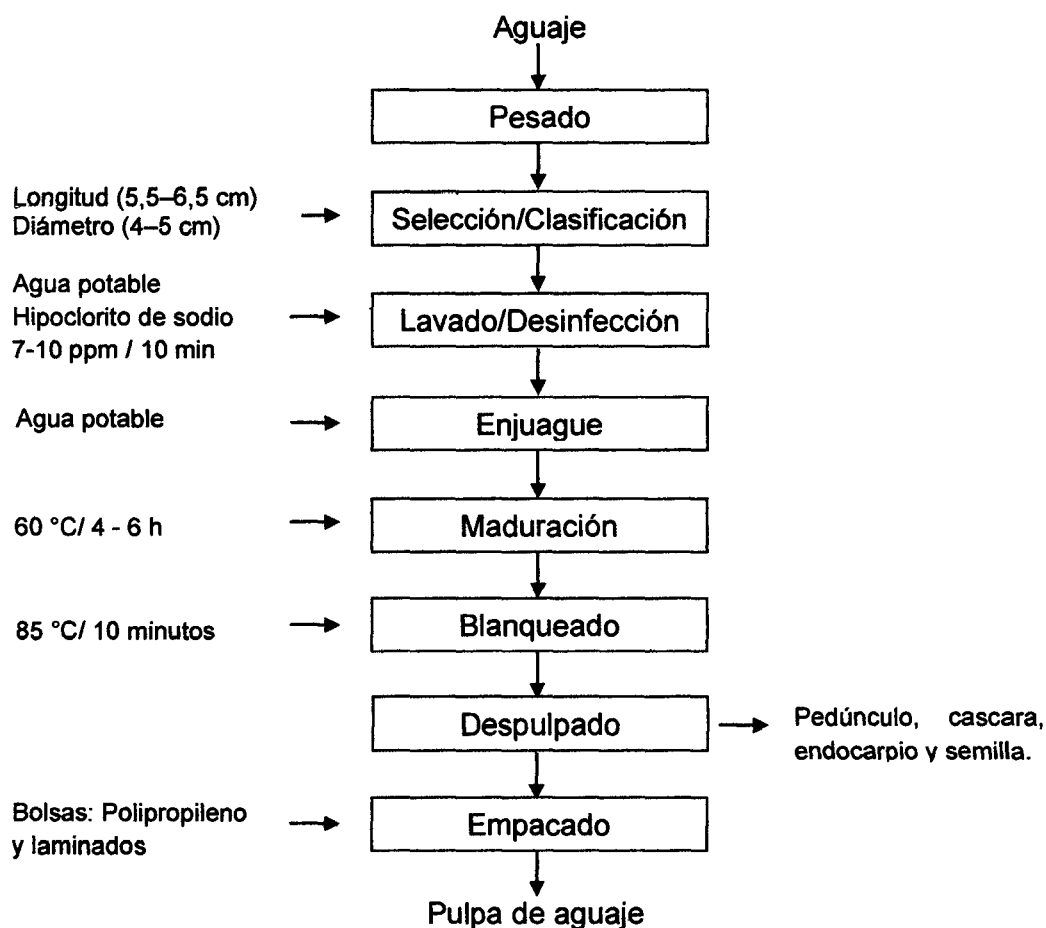


Figura 5. Flujograma para la obtención de pulpa de aguaje.

Pesado

Se pesó los frutos pintones evidenciados por su color (rojo oscuro), firmeza al tacto del fruto y desprendimiento del pedúnculo al aplicar presión sobre él, con la finalidad de determinar los rendimientos del proceso.

Selección – Clasificación

Se seleccionaron los frutos de (longitud 5,5 - 6,5 cm diámetro 4 - 5 cm). Se clasificaron los frutos maduros de mejor apariencia sin daños físicos.

Lavado – Desinfección

Se lavaron con agua potable, eliminando los residuos de tierra y suciedad adheridos a los frutos, que recogen durante la cosecha y transporte; luego los frutos lavados se dejaron en inmersión en una solución de 7 a 10 ppm de hipoclorito de sodio por 10 minutos para su desinfección.

Enjuague

Los frutos se enjuagaron con abundante agua potable con la finalidad de eliminar el desinfectante.

Maduración

Los frutos se sumergieron en agua a 60°C por 4 – 6 horas, con la finalidad de acelerar su maduración; transcurrido el tiempo se toma un fruto, se presiona el pedúnculo y cascara separándose fácilmente de la pulpa, indicando que los frutos están maduros.

Escaldado

Los frutos se sumergieron en agua a 85 °C por 5 minutos con la finalidad de evitar el pardeamiento enzimático.

Despulpado

El despulpado de los frutos, se realiza en forma manual, obteniéndose finalmente la separación entre pulpa – corteza (cascara) y los residuos que constituyen el endocarpio y la semilla.

Empacado

La pulpa obtenida de color amarillo y de apariencia pastosa, se empaco en empaques de polipropileno sellados herméticamente y cubiertos con empaques laminados para protegerlos de la luz.

3.5.2 Liofilización de la pulpa de aguaje

Para la obtención de la pulpa liofilizada de aguaje se procedió de acuerdo al flujograma mostrado en la Figura 6. Los parámetros físicos utilizados para el desarrollo de este trabajo han sido tomados de la literatura (GUERRERO *et al.*, 2011).

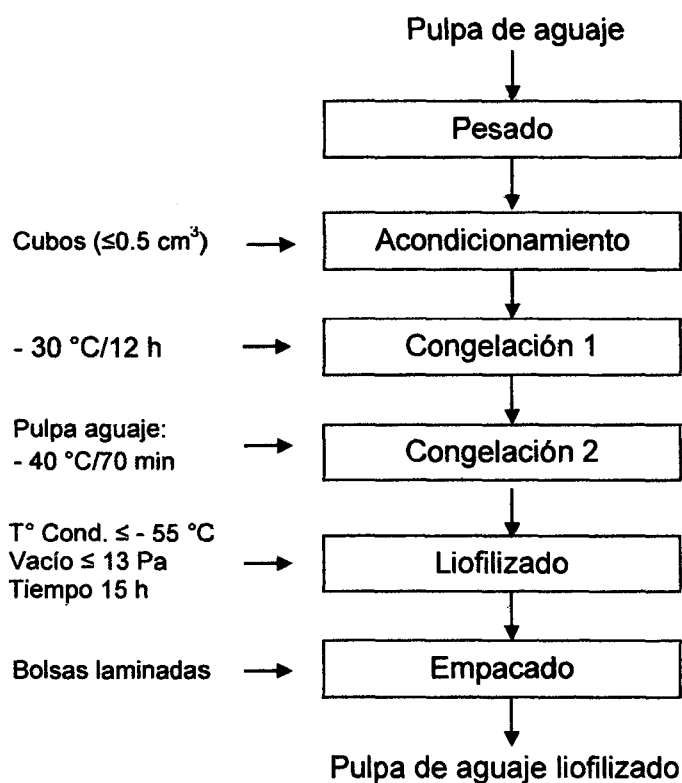


Figura 6. Flujograma para la obtención de pulpa liofilizado de aguaje.

Pesado

Se pesó la pulpa de aguaje para determinar los rendimientos del proceso.

Acondicionamiento

Se acondiciono la pulpa de aguaje en las 3 bandejas del liofilizador (De 20 cm de diámetro) cubriendo todo el área con un espesor de 1cm aproximadamente, luego con un estilete se hicieron surcos horizontales y verticales formando cubos pequeños aproximadamente $\leq 0,5 \text{ cm}^3$.

Congelación 1

Las bandejas conteniendo la pulpa de aguaje se llevaron a un congelador a $-30 \text{ }^\circ\text{C}$ por 12 horas.

Congelación 2

Las bandejas con la pulpa de aguaje congelada a $-30 \text{ }^\circ\text{C}$ se colocaron en la cámara del condensador y se congelaron hasta $-40 \text{ }^\circ\text{C}$ aproximadamente en una hora con diez minutos.

Liofilizado

Las bandejas conteniendo la pulpa de aguaje congelada a -40°C se colocaron en la cámara de vacío, se sellaron herméticamente y se liofilizaron a $\leq -55^\circ\text{C}$ promedio de temperatura del condensador, presión de vacío $\leq 13 \text{ Pa}$ por 15 horas de proceso.

Empacado

El producto obtenido fue de color amarillo, seco, se redujo el tamaño de partículas a un polvo grosero con simple presión mecánica manualmente. Se colocó en empaques laminados plateados, sellados herméticamente para su almacenamiento.

3.5.3 Análisis fisicoquímico de la pulpa de aguaje

Las determinaciones analíticas de humedad, ceniza, proteína, grasa, fibra y carbohidratos por diferencia fueron realizadas de acuerdo con los métodos estándares de la AOAC.

- Humedad, método 23.003 AOAC (1997).
- Proteína, método 991.29 AOAC (1997).
- Grasa, método 935.60 AOAC. (1997).
- Cenizas, método 942.50 de calcinación directa AOAC (1997).
- Carbohidratos se determinó por diferencia de los demás componentes del análisis físico químico.

3.5.4 Conducción de las pruebas aceleradas de pulpa de aguaje liofilizado

Para la determinación de la estabilidad de la pulpa de aguaje liofilizado mediante pruebas aceleradas, se procedió a colocar muestras del producto en empaques laminados (20g) sellados herméticamente en estufas termoreguladas a temperaturas de: 40, 50 y 60°C, con una variación promedio de ± 2 °C y una muestra a Temperatura ambiente.

Se evaluó como factor de calidad el contenido de carotenoides totales y el cambio oxidativo por el método FOX (Formación de peróxido). El tiempo de

almacenamiento, así como los intervalos de tiempo para cada análisis fueron determinados en pruebas preliminares, determinándose un tiempo de 4 y 3 días respectivamente para cada análisis. Los análisis respectivos se realizaron por triplicado, y por cada temperatura de trabajo, los resultados se expresaron como valores promedios con sus respectivas desviaciones estándar.

3.5.5 Evaluación de carotenoides totales de pulpa de aguaje liofilizado

Se evaluó por el método descrito por (WROLSTAD *et al.*, 2005).

- Se pesó $0,2 \pm 000$ g de pulpa de aguaje liofilizada en un tubo de ensayo de 12 ml.

- Se añadió 4 ml de éter de petróleo y se lixivio por 5 minutos en un vortex a 700 rpm, se dejó reposar 30 segundos y se filtró con papel filtro nº 40, se repitió la extracción y se filtró.

- Se encendió el espectrofotómetro y se estableció la longitud de onda de 445 nm. Se dejó que el instrumento se estabilice ≥ 30 min antes de tomar cualquier lectura.

- Se colocó el espectrofotómetro a cero midiendo el blanco (solvente - éter de petróleo) a la longitud de onda establecida en una cubeta de vidrio.

- Se enrasó el extracto filtrado a volumen final de 8 ml con éter petróleo y se leyó en el espectrofotómetro la absorbancia a 445 nm.

- Se calculó el contenido de carotenoides totales utilizando la siguiente fórmula:

$$C = A / a * b * 0,01$$

Dónde:

C = Concentración de carotenoides

A = Absorbancia de la muestra

a = Absortividad específica: $2500 \text{ L g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

b = Longitud de la celda: 1,0 cm

3.5.6 Obtención del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado

Se pesó 5 ± 0000 g de pulpa de aguaje liofilizado en un matraz de 100 ml, se adiciono 60 ml de éter de petróleo dejando macerar por 10 min con agitación constante en un agitador a condiciones ambientales. Se filtró con papel filtro n° 40 separando la fracción lipídica. Se repitió la extracción y filtración de la misma muestra con los pasos indicados anteriormente, luego se llevó al rotavapor a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ por 15 minutos, seguidamente a estufa a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ por 5 minutos para eliminar la fracción remanente de éter petróleo, con el extracto lipídico obtenido se procedió a realizar los análisis.

3.5.7 Evaluación del cambio oxidativo (formación de peróxidos) por el método de oxidación ferrosa en xilenol naranja FOX

Se evaluó por el método descrito por (WROLSTAD *et al.*, 2005) aplicado por (JIANG *et al.*, 1992 Y ROJANO *et al.*, 2008).

El método de oxidación ferroso / naranja de xilenol (FOX) se basa en la capacidad que presentan los peróxidos lipídicos para oxidar los iones ferrosos Fe^{2+} a pH bajo. La oxidación resultante se cuantificó mediante el uso de un colorante que forma complejos con los iones férricos Fe^{3+} generados para producir un color que puede ser medido espectrofotométricamente. Peróxido de valores tan bajos como 0,1 meq de oxígeno activo / kg de muestra se pueden determinar con este método.

- Estandarización del método de oxidación ferrosa en xilenol naranja (FOX)

- Se pesó de 0,01 a 0,30 ± 00 g de aceite o extracto lipídico de la muestra en un tubo de ensayo.
- Se añadió 9,9 ml de solución cloroformo/metanol (7:3). Se agito de 2 a 4 segundos.
- Se encendió el espectrofotómetro y se estableció la longitud de onda de 560 nm. Se dejó que el instrumento se estabilice ≥ 30 minutos antes de tomar cualquier lectura.
- Se colocó el espectrofotómetro a cero, midiendo el blanco (solución de cloroformo /metanol y 50 μ l de solución xilenol naranja al 10 mM).
- Se añadió 50 μ l de solución xilenol naranja al 10 mM y se agito 2 a 4 segundos, luego se añadió 50 μ l de solución de cloruro de hierro (II) y se agito de 2 a 4 segundos.
- Se dejó reposar la solución exactamente 5 minutos a temperatura ambiente y se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro a 560 nm.
- Se construyó una curva estándar mediante la repetición de los pasos anteriores a excepción del pesado de extracto lípido (No debe de existir un aceite de uso o extracto lipídico de la muestra en el tubo de ensayo). En lugar de la muestra, se agregaron a tubos alícuotas de 0,1; 1; 2, 3, y 4 ml solución patrón (10 μ g/ml) de cloruro de hierro (III), luego se añaden 50 μ l de solución al 10 mM de naranja xilenol, y lo restante de solución cloroformo/metanol (7:3) a un volumen final de 10 ml. Se leyeron en el espectrofotómetro a 560 nm, los resultados de absorbancia se grafican en una recta.

- Evaluación del cambio oxidativo por el método FOX en extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado

- Se pesó de $0,01 \pm 00$ g extracto lipídico de la muestra en un tubo de ensayo.

- Se añadió 9,9 ml de solución cloroformo/metanol (7:3). Se agito de 2 a 4 segundos.

- Se encendió el espectrofotómetro y se estableció la longitud de onda de 560 nm. Se dejó que el instrumento se estabilice ≥ 30 minutos antes de tomar cualquier lectura.

- Se colocó el espectrofotómetro a cero, midiendo el blanco (solución de cloroformo /metanol).

- Se añadió 50 μ l de solución xilenol naranja al 10 mM y se agito 2 a 4 segundos, luego se añadió 50 μ l de solución de cloruro de hierro (II) y se agito de 2 a 4 segundos.

- Se dejó reposar la solución exactamente 5 minutos a temperatura ambiente y se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro a 560 nm.

- Se calculó el valor de peróxidos utilizando la siguiente ecuación.

$$PV = [(A_S - A_B) M_i] / W \times 55,84 \times 2$$

Dónde:

A_S = Absorbancia de la muestra.

A_B = Absorbancia del blanco.

M_i = 1 / pendiente.

W = Peso de la muestra.

55,84 = Peso atómico del hierro.

3.5.8 Determinación de los parámetros cinéticos

- Determinación del orden de reacción (n) y constante de velocidad de reacción (k)

Se empleó el modelo de integración de pérdida de calidad planteado por LABUZA (1993) y aplicado por ROMERO (2008), para determinar el orden de reacción, según los factores de calidad evaluados.

Este método consiste en elegir un orden de reacción (n) igual a cero, uno y dos e integrar la ecuación:

$$\pm \frac{dA}{dt} = kA^n$$

Para n=0 se tiene: $A = A_0 + kt$

Para n=1 se tiene: $\ln A = \ln A_0 + kt$

Para n=2 se tiene: $\frac{1}{A} = \frac{1}{A_0} + kt$

En las ecuaciones obtenidas se reemplazó los resultados promedio experimentales de A que es el factor de calidad (obtenidos de los análisis de carotenoides totales y cambio oxidativo por el método FOX) y t que es el tiempo de estabilidad a las temperaturas de almacenamiento de (Temperatura ambiente (25°C), 40°C, 50°C y 60°C), k es la constante de velocidad de reacción (valor de la pendiente de dicha regresión y n es el orden de reacción).

Se regresiono linealmente para escoger la ecuación (n=0, n=1 y n=2) que mejor se ajustó a lo planteado, en base al coeficiente de correlación (R^2). Se determinó el orden de reacción para cada factor de calidad medido, también se determinó los valores de las constantes de velocidad de reacción (k) que es igual al valor de la pendiente de dicha regresión para cada temperatura de estudio.

- **Determinación de la energía de activación (Ea) usando el modelo Arrhenius.**

La ecuación de Arrhenius relaciona la constante de velocidad de reacción (k) con la temperatura.

$$k = k_0 e^{\frac{-E_a}{RT}}$$

$$\ln k = \ln k_0 - \frac{1 \cdot E_a}{T \cdot R}$$

Luego, la ecuación puede tomar la forma lineal, donde al graficar $\ln k$ contra $1/T$ daría una línea recta cuya pendiente sería igual a $(-E_a/R)$.

Los valores de las constantes de velocidad de reacción obtenidos experimentalmente a sus respectivos temperaturas en grados kelvin ($^{\circ}\text{K}$), se ajustan al modelo de Arrhenius por regresión.

Luego en la pendiente de la ecuación obtenida reemplazamos el valor de $R = 1,98717 \text{ cal} \cdot \text{mol}^{-1} \text{K}^{-1}$, y se despeja la energía de activación E_a .

$$b = - \frac{E_a}{R}$$

Donde:

b: Pendiente de la ecuación

$$E_a = b * 1,98717 \text{ cal} \cdot \text{mol}^{-1} \text{K}^{-1}$$

3.5.9 Análisis estadístico

Para la determinación de los efectos del tiempo y temperatura de almacenamiento de la evaluación de carotenoides totales y el cambio oxidativo por el método FOX, se utilizó el modelo estadístico Diseño Completo al Azar (DCA) y Diseño de Bloque Completo al Azar (DBCA).

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el software STATGRAPHICS 5.1.

- **Comparación de medias**

La diferencia significativa existente entre las medias de los tratamientos se evaluó mediante la prueba de Tukey.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Análisis fisicoquímico de la pulpa de aguaje

En el Cuadro 5 se presentan los resultados fisicoquímicos de la pulpa de aguaje.

Cuadro 5. Características fisicoquímicas de la pulpa de aguaje.

Análisis fisicoquímico	Resultado (%)
Humedad (%)	56,06 ± 0,03
Proteína (%) (N x 6.25)	2,83 ± 0,41
Grasa (%)	22,27 ± 0,08
Ceniza (%)	0,91 ± 0,01
Carbohidratos (%)	7,45 ± 0,59
Fibra (%)	10,47 ± 0,33
pH	3,68 ± 0,03

Fuente: Elaboración propia

Del cuadro 5 el componente mayoritario del fruto es el contenido de humedad $56,06 \pm 0,03$ %, siendo mayor comparado con el valor obtenido por LUJAN (2010) que fue de 48,34%, y menor a lo reportado por MANHAES (2007) y VÁSQUEZ *et. al.* (2009) que fueron de 62,93 y 62,85% respectivamente. Se puede considerar normal para frutos oleaginosos la tasa de humedad entre 54 y 84%.

El contenido de lípidos fue de $22,27 \pm 0,08$; valor similares a lo reportado por VÁSQUEZ *et. al.* (2009) que fue de 22,80%. El contenido de proteína fue de $2,83 \pm 0,41$; valor similares a lo reportado por MANHAES (2007) y LUJAN (2010) que fueron de $2,10 \pm 0,19$ y 2,10% respectivamente, VÁSQUEZ *et. al.* (2009) reporto valores de 3,90%.

El contenido de ceniza (minerales totales) fue de $0,91 \pm 0,0$; valor similar a lo reportado por LUJAN (2010) y MANHAES (2007), que fueron de 1,02 y 0,94% respectivamente. El contenido de carbohidratos fue de $17,92 \pm 0,45$; valor menor a lo reportado por LUJAN (2010) que fue de 29,81%.

4.2 Análisis fisicoquímico de pulpa de aguaje liofilizado

En el Cuadro 6 se presentan los resultados fisicoquímicos de la pulpa de aguaje liofilizado.

Cuadro 6. Características fisicoquímicas de la pulpa de aguaje liofilizado.

Análisis fisicoquímico	Resultado
Humedad (%)	$2,13 \pm 0,08$
Proteína (%) (N x 6.25)	$6,45 \pm 0,92$
Grasa (%)	$50,68 \pm 0,18$
Ceniza (%)	$2,08 \pm 0,03$
Fibra (%)	$23,83 \pm 0,33$
Carbohidratos (%)	$14,83 \pm 1,29$
pH	$3,69 \pm 0,04$

Fuente: Elaboración propia

En el cuadro 6 se muestran el contenido de humedad de $2,13 \pm 0,08$ para 15 horas de liofilizado valor similar reportado por GUERRERO *et al.* (2011) de 2,60%; esto para 16 horas de liofilizado. LUJAN (2010) reporta 3,19% de humedad, pero no reporta el tiempo de liofilizado. LOPEZ-QUIROGA *et al.* (2012.), menciona que normalmente los niveles finales de humedad en productos liofilizados son alrededor de 0,5% w / w.

Cuadro 7. Balance de materia de la obtención de pulpa de aguaje.

OPERACIÓN	Movimiento del proceso (Kg)			Rendimiento (%)	
	Entra	Sale	Continua	Operación	Proceso
Recepción	2,330		2,330	100,00	100,00
Pesado	2,330		2,330	100,00	100,00
Selección - clasificación	2,330	0,280	2,050	87,98	87,98
Lavado	2,050	0,026	2,024	98,73	86,87
Desinfección	2,024		2,024	100,00	86,87
Enjuague	2,024		2,024	100,00	86,87
Maduración	2,024	0,114	1,910	94,37	81,97
Escaldado	1,910	0,160	1,750	91,62	75,11
Despulpado	1,750	1,420	0,330	18,86	14,16
Envasado	0,330		0,330	100,00	14,16

Fuente: Elaboración propia

Del cuadro 7 se obtuvo un rendimiento por proceso de 14,16 %, valor superior a lo reportado por NAVARRO (2006), que indica que la pulpa de aguaje representa un 12 % del total del peso del fruto. GARCIA Y REATEGUI (2002), reportan un 13,5 %.

Cuadro 8. Balance de materia de la obtención de pulpa de aguaje liofilizado.

OPERACIÓN	MOVIMIENTO DEL PROCESO (Kg)			RENDIMIENTO (%)	
	Entra	Sale	Continua	Operación	Proceso
Recepción	0,355		0,355	100,00	100,00
Pesado	0,355		0,355	100,00	100,00
Acondicionamiento	0,355		0,355	100,00	100,00
Enfriamiento 1	0,355		0,355	100,00	100,00
Enfriamiento 2	0,355		0,355	100,00	100,00
Secado	0,355	0,195	0,160	45,07	45,07
Envasado	0,160		0,160	100,00	45,07

Fuente: Elaboración propia

Del cuadro 8 se obtuvo un rendimiento por proceso de 45,07 %, valor superior a lo reportado por LUJAN (2010), que obtuvo un rendimiento de 46,4 % por proceso, esto se debe a la humedad inicial de la pulpa de aguaje y la humedad final de la pulpa liofilizada.

4.3 Evaluación de carotenoides totales de pulpa de aguaje liofilizado

En el cuadro 9 se presentan los resultados de la evaluación de la concentración de carotenoides totales de pulpa de aguaje liofilizada, almacenados a diferentes temperaturas a través del tiempo.

Cuadro 9. Variación de carotenoides totales de pulpa de aguaje liofilizado en almacenamiento a diferentes temperaturas.

Tiempo (días)	Carotenoides totales (mg/100g de aguaje)			
	25 °C	40 °C	50 °C	60 °C
0	5,5907±0,03	5,5907±0,03	5,5907±0,03	5,5907±0,03
4	5,4700±0,07	5,2128±0,04	5,0146±0,09	4,7029±0,07
8	5,3307±0,05	4,9297±0,13	4,3561±0,06	3,9879±0,23
12	5,0307±0,07	4,6551±0,11	3,8467±0,17	3,4211±0,20
16	4,9100±0,06	4,1387±0,23	3,3623±0,09	2,8123±0,21
20	4,7089±0,04	3,8356±0,15	3,1438±0,13	2,6530±0,09
24	4,7044±0,08	3,7764±0,11	3,0248±0,04	2,2944±0,08
28	4,5578±0,03	3,6680±0,05	2,7916±0,12	2,0954±0,04
32	4,3259±0,05	3,4757±0,05	2,5777±0,07	1,7334±0,05
36	4,1355±0,02	3,3043±0,05	2,1319±0,06	1,3824±0,13
40	4,0325±0,04	3,1852±0,06	1,7916±0,04	1,0755±0,40

Fuente: Elaboración propia

Del análisis de varianza (ANVA) del cuadro 9 (Anexo I), existe efecto altamente significativo entre el tiempo y la temperatura de almacenamiento en la concentración de carotenoides totales con ($P_{\text{valor}} = 0,00$). Un aumento de la temperatura de almacenamiento es indeseable, dado su afecto en la degradación de carotenoides totales. MORENO *et al.* (2003), indica que los factores involucrados en el deterioro de los carotenoides están: la temperatura de almacenamiento y procesamiento, contenido de humedad, contenido graso y la luz. A pesar de que los procesos liofilización se efectúan a temperaturas y presiones bajas, algunos autores señalan deterioro progresivo de los carotenoides, por su parte

DERMESONLOUOGLOU *et al.* (2006) menciona que las altas temperaturas, la luz y el oxígeno tienen efectos sobre la degradación de carotenoides y la congelación no impide su degradación.

El efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el contenido de carotenoides totales se llevó a la prueba de comparación de medias por Tukey, los resultados son mostrados en el cuadro 10.

Cuadro 10. Efecto de la temperatura de almacenamiento en carotenoides totales de pulpa de aguaje liofilizado.

Temperatura de almacenamiento (°C)	Cantidad	Promedio de carotenoides totales (mg/100g de aguaje)
25	33	4,7997 ^a ± 0,5099
40	33	4,1636 ^b ± 0,8365
50	33	3,4196 ^c ± 1,1319
60	33	2,8862 ^d ± 1,3848

Los valores representan el promedio, los datos provienen del experimento (n=33) valores de una misma fila con superíndices diferentes son significativos (p<0,05), por Tukey

Del cuadro 10, existe diferencia significativa entre el contenido de carotenoides totales almacenados a 25, 40, 50 y 60 °C, lo que significa que la temperatura es un factor muy importante en la degradación de los carotenoides totales. ANGUELOVA Y WARTHESEN (2000), estudiaron la estabilidad de carotenoides (α -caroteno y β -caroteno) durante la oxidación de linoleato de metilo a 37 y 60 °C. A 60 °C los carotenoides se degradaron 6 a 8 veces más rápido que a 37 °C. LUJAN (2010) muestra el deterioro del β -caroteno extraídas de la pulpa de

aguaje liofilizado almacenadas a 30 °C durante 180 días debido a una degradación oxidativa por efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento.

4.4 Determinación de los parámetros de cinética para la degradación de carotenoides totales

4.4.1 Determinación del orden de reacción (n) y constante de velocidad de reacción (k)

Los datos del cuadro 9 se acondicionaron para realizar la regresión lineal utilizando el modelo de pérdida de calidad propuesto por (LABUZA, 1993) considerando ordenes de reacción cero uno y dos ($n= 0,1$ y 2); los datos se muestran en los anexos II y III, y figuras 7, 8 y 9 respectivamente.

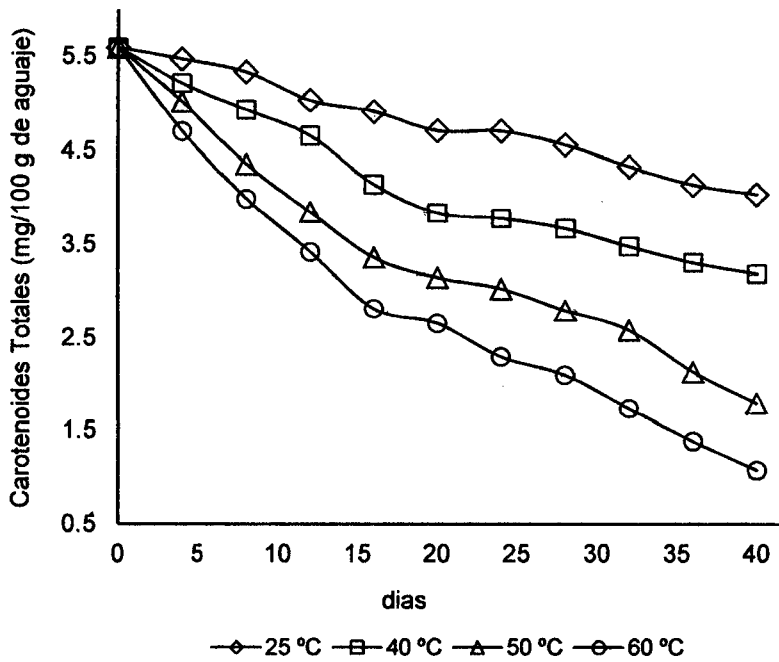


Figura 7. Variación de carotenoides totales de pulpa de aguaje liofilizado en almacenamiento a diferentes temperaturas.

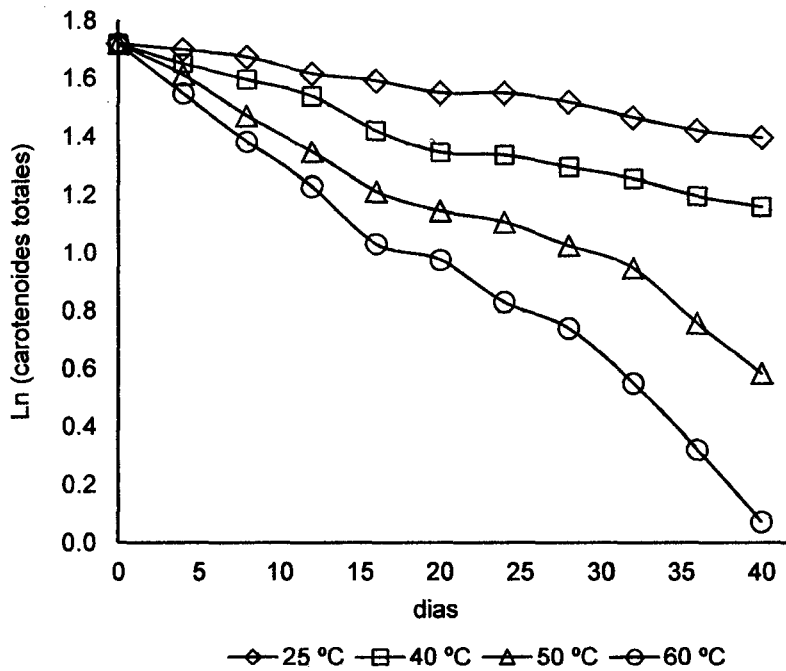


Figura 8. Variación del Ln (Carotenoides totales) de pulpa de aguaje liofilizado en almacenamiento a diferentes temperaturas.

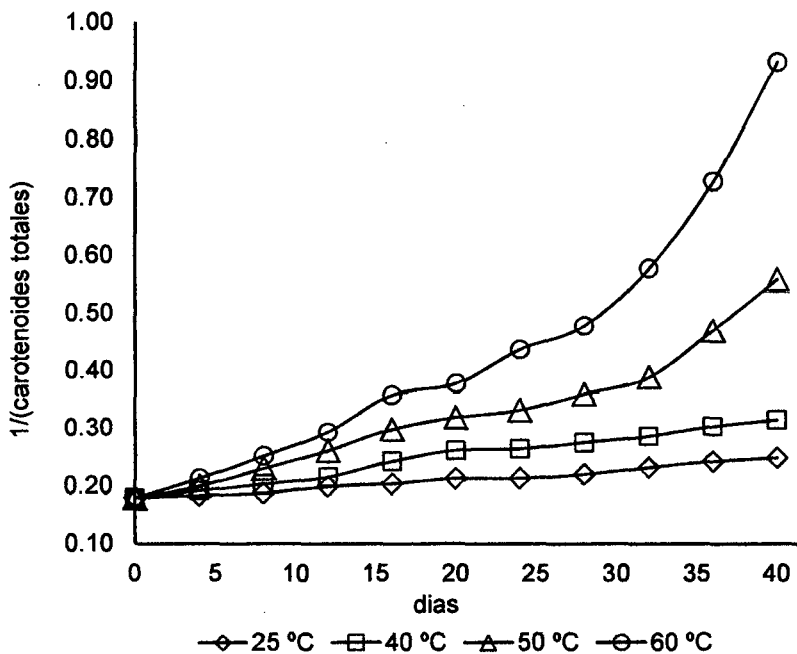


Figura 9. Variación de 1/(Carotenoides totales) de pulpa de aguaje liofilizado en almacenamiento a diferentes temperaturas

Los resultados de la regresión lineal de los valores experimentales obtenidos de la concentración de carotenoides totales considerando los órdenes de reacción cero, uno y dos; se muestran en el cuadro 11.

Cuadro 11. Correlación lineal del modelo de (LABUZA, 1993) para órdenes de reacción cero, uno y dos en función a la degradación de carotenoides totales de pulpa de aguaje liofilizado almacenados a diferentes temperaturas.

Temperatura T (°C)	ORDEN CERO		ORDEN UNO		ORDEN DOS	
	k	R ²	k	R ²	k	R ²
25	0,0393	0,9879	0,0082	0,9879	0,0017	0,9832
40	0,0599	0,9516	0,0142	0,9732	0,0034	0,9856
50	0,0871	0,9554	0,0260	0,9794	0,0084	0,9366
60	0,1041	0,9522	0,0383	0,9870	0,0165	0,8974

Fuente: Elaboración propia

Del cuadro 11 se promediaron los valores de R² de cada orden de reacción. El orden que mejor se ajusta a la degradación de carotenoides totales es el orden uno con R²_{promedio} = 0,9819. Esto es comparable a lo obtenido por MORENO *et al.* (2003) la degradación de los carotenoides totales liofilizados extraídos del pericarpio de la lechosa (*Carica papaya L*) almacenado a 25 °C, siguió una cinética de orden uno.

Así también TANG Y CHENG (1999) reportan que la tasa de degradación de pigmentos carotenoides liofilizados obtenidos de residuos de pulpa

de zanahorias, almacenados en oscuridad a 4, 25 o 45 °C, o bajo la luz a 25°C, siguen un modelo de orden 1.

Del análisis de varianza (ANVA) del cuadro 11 (Anexo IV), existe efecto altamente significativo de la temperatura de almacenamiento sobre la velocidad de degradación de carotenoides totales con ($P_{\text{valor}} = 0,000$).

El efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la velocidad de degradación de carotenoides totales se llevó a la prueba de comparación de medias por Tukey, los resultados son mostrados en el cuadro 12

Cuadro 12. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la velocidad de degradación de carotenoides totales de la pulpa de aguaje liofilizado.

Temperatura de almacenamiento (°C)	Cantidad	Promedio de velocidad de degradación de carotenoides totales (días ⁻¹)
25	3	0,0082 ^a ± 0,0003
40	3	0,0142 ^b ± 0,0002
50	3	0,0259 ^c ± 0,0004
60	3	0,0383 ^d ± 0,0008

Los valores representan el promedio, los datos provienen del experimento (n=3) valores de una misma fila con superíndices diferentes son significativos ($p < 0,05$), por Tukey.

Del cuadro 12, se observa que existe diferencia significativa entre las velocidades de degradación de carotenoides totales almacenados a 25, 40, 50 y 60 °C. La velocidad de degradación (k) a 25 °C (orden uno) es 0,0082 días⁻¹. MORENO *et al.* (2002) reporta velocidades de degradación de 0,0160 días⁻¹ para carotenoides liofilizados extraídos del pericarpio de lechosa *Carica papaya L.* almacenadas a 25 °C que siguieron un orden de reacción uno.

TANG Y CHENG (1999) obtuvieron velocidad de degradación para α -caroteno y β -caroteno almacenada a 25 °C bajo la luz y oscuridad de 0,039 días⁻¹; 0,020 días⁻¹ y 0,043 días⁻¹; 0,024 días⁻¹ respectivamente, pigmentos obtenidos de residuos de pulpa de zanahorias.

4.4.2 Determinación de la energía de activación (Ea) para la degradación de carotenoides totales utilizando el modelo de Arrhenius

Las constantes de velocidad de reacción (k) de orden uno de la degradación de carotenoides totales almacenados a diferentes temperaturas mostrados en el cuadro 11 se acondicionaron para el ajuste al modelo de Arrhenius, los resultados se muestran en el cuadro 13 y figura 10.

Cuadro 13. Constantes de velocidad de reacción (k) de orden uno de la degradación de carotenoides totales almacenados a diferentes temperaturas acondicionado para el ajuste a la ecuación de Arrhenius linealizada.

Temperatura			ORDEN UNO		
T (°C)	T (°K)	1/°K	k	Ln k	R ²
25	298	0,0034	0,0082	-4,80	0,9879
40	313	0,0032	0,0142	-4,26	0,9732
50	323	0,0031	0,0260	-3,65	0,9794
60	333	0,0030	0,0383	-3,26	0,9870

Fuente: Elaboración propia

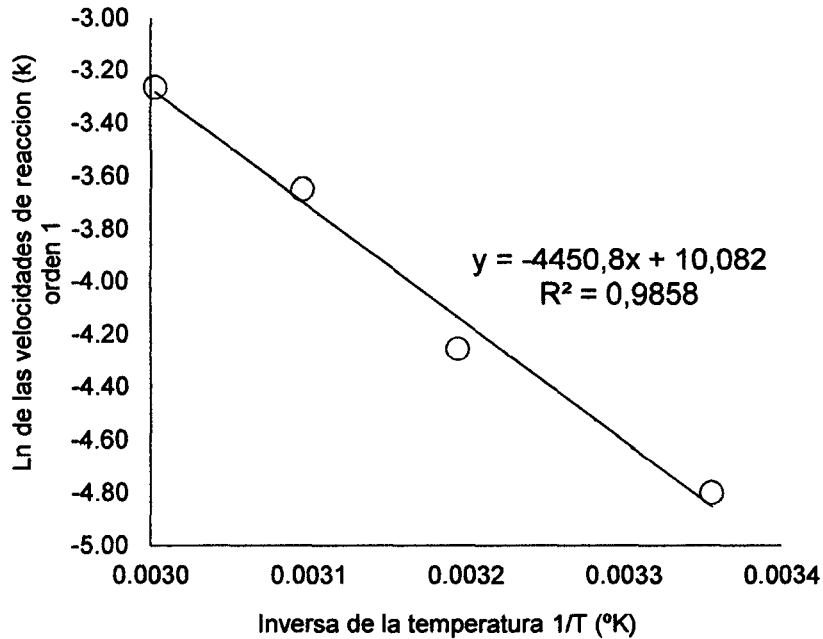


Figura 10. Relación de las constantes de velocidad de reacción (k) de degradación de carotenoides totales de primer orden con la temperatura, ajustada a la ecuación de Arrhenius linealizada.

$$k = k_0 e^{\frac{-E_a}{RT}} \longrightarrow \ln k = \ln k_0 - \frac{1 \cdot E_a}{T \cdot R}$$

$$\ln k_0 = 10,082 \longrightarrow k_0 = 2,39 \times 10^4$$

$$k = (2,39 \times 10^4) e^{(-4450,8/T)}$$

La pendiente de la regresión lineal es igual a $x = -\frac{E_a}{R}$

$$\frac{E_a}{R} = \frac{E_a}{1,98717 \text{ cal. mol}^{-1} \text{ K}^{-1}} = 4450,8$$

$$E_{a \text{ orden uno}} = 8,84 \text{ kcal/mol}$$

La energía de activación para la degradación de carotenoides totales fue 8,84 kcal/mol. ROMERO (2008) reportó una energía de activación 8,68 Kcal mol⁻¹, para reacción de orden uno para la degradación de vitamina A de una fórmula infantil de continuación y crecimiento a 23, 30 y 37 °C.

4.5 Estabilidad de carotenoides totales de pulpa de aguaje liofilizado

4.5.1 Simulación de la constante de velocidad de reacción (k) de degradación de carotenoides totales

Con la ecuación de Arrhenius obtenida del ajuste a orden uno, se calculó las constantes de velocidad de reacción (k) a diferentes temperaturas el cual se muestra en el cuadro 14.

Para 20°C = 293°K

Modelo Arrhenius $k = k_0 \cdot e^{-E_a/RT}$

Obtenido: $k = (2,39 \times 10^4) e^{(-4450,8/T)}$

Reemplazando la temperatura:

$$k_{20^\circ\text{C}} = (2,39 \times 10^4) e^{\left(-\frac{4450,8}{293}\right)} \longrightarrow k_{20^\circ\text{C}} = 0,0078 \text{ días}^{-1}$$

Cuadro 14. Constantes de velocidad de reacción (k) de degradación de carotenoides totales simulado a diferentes temperaturas

T (°C)	k(simulado)
20	0,0078
25	0,0100
30	0,0127
35	0,0160
40	0,0200
45	0,0248
50	0,0306
55	0,0375
60	0,0457

Fuente: Elaboración propia

4.5.2 Estimación de la estabilidad de la pulpa de aguaje liofilizado

Se calculó en función al porcentaje de pérdida de carotenoides totales a través del tiempo debido a que no se dispone de un valor mínimo aceptable de calidad. Aplicando la ecuación propuesta por (LABUZA, 1993) para orden de reacción uno ($n = 1$).

$$\text{Se tiene: } \ln A = \ln A_0 + kt$$

Se reemplazó los valores de constante de velocidad de reacción (k simulado a 20 °C), la concentración inicial (A), la concentración final (A_0) (en función al porcentaje de pérdida) y se despeja el tiempo de estabilidad.

Cuadro 15. Estabilidad de la pulpa de aguaje liofilizado almacenado a 20 °C en función a la concentración de carotenoides totales por porcentajes de pérdida.

% de perdida	Concentración final (mg/100g de aguaje)	Tiempo de estabilidad (días)	Tiempo de (estabilidad meses)
10	5,0316	13,5069	0,4502
15	4,7521	20,8345	0,6945
20	4,4726	28,6064	0,9535
25	4,1930	36,8801	1,2293
30	3,9135	45,7248	1,5242
35	3,6340	55,2252	1,8408
40	3,3544	65,4865	2,1829
45	3,0749	76,6411	2,5547
50	2,7954	88,8596	2,9620

Del cuadro 15 se estableció que son necesarios 89 días para que se degraden el 50% de los carotenoides totales de la pulpa de aguaje liofilizado almacenados a una temperatura de 20 °C. MORENO *et al.* (2003) reporta que son necesarios 42 días para que se degrade el 50% de los carotenoides liofilizados extraídos del pericarpio de lechosa *Carica papaya L.* almacenadas a 25 °C que siguieron un orden de reacción uno.

4.6 Evaluación del cambio oxidativo (formación de peróxidos) por el método de oxidación ferrosa en xilenol naranja (FOX)

4.6.1 Curva Estándar

En el cuadro 16 y la figura 11 se muestra la curva estándar de hierro III para calcular el cambio oxidativo (formación de peróxidos) por el método de oxidación ferrosa en xilenol naranja (FOX).

Cuadro 16. Lecturas de las diferentes alícuotas de hierro III, para la construcción de la curva estándar.

Alícuota de hierro III (ml)	Abs R1	Abs R2	Abs R3	Promedio
0,1	0,140	0,140	0,139	0,140
1	0,189	0,187	0,188	0,188
2	0,241	0,242	0,241	0,241
3	0,308	0,304	0,310	0,307
4	0,368	0,361	0,362	0,364

Fuente: Elaboración propia

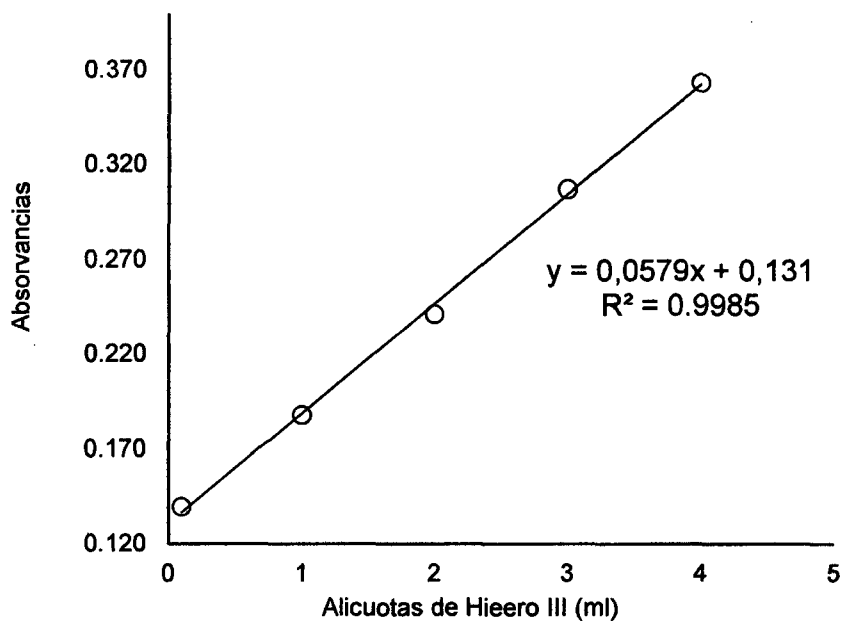


Figura 11. Comportamiento de la curva estándar de alícuotas de hierro III vs absorbancias por el método FOX.

De la figura 7 se observa que la curva estándar presento un valor de $R^2=0,9985$. NAVAS (2005) reporto una curva de calibración con $R^2=0,9998$ obtenidas usando xilenol naranja y el CHP (hidroperóxido de cumeno) como estándar de 2-13 nmol CHP/mL fueron utilizados. WEBSTER (2000) menciona que entre mayor sea el valor absoluto de " R^2 " más fuerte será la relación entre "x" y "y".

HERNANDEZ *et al.* (2001) indica valores cercanos a 1 se considera ajustes casi perfectos, esto indica que tiene una buena estimación de ajuste de los datos.

4.6.2 Evaluación del cambio oxidativo (formación de peróxidos) por el método FOX en extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado.

Los resultados de la evaluación del cambio oxidativo se muestran en el cuadro 17.

Cuadro 17. Variación del valor de peróxidos en el extracto lipídico de la pulpa de aguaje liofilizado almacenado a diferentes temperaturas.

Tiempo (días)	Valor de peróxido (meq O ₂ / Kg extracto lipídico)			
	25 °C	40 °C	50 °C	60 °C
0	3,2935±0,0766	3,2935±0,0766	3,2475±0,0405	3,2884±0,0691
3	3,3956±0,0538	3,4671±0,0724	3,6867±0,0619	3,8552±0,0468
6	3,5335±0,0580	3,5590±0,0756	4,0033±0,0619	4,4526±0,0638
9	3,5590±0,1020	3,7531±0,0668	4,6875±0,1555	5,3054±0,2152
12	3,7990±0,0306	4,2126±0,1005	5,0603±0,1229	5,9436±0,0405
15	3,8807±0,0177	4,5547±0,0580	5,2747±0,0771	7,3580±0,1624
18	3,8348±0,0619	4,8917±0,1285	6,2143±0,0619	7,9810±0,0552
21	3,9777±0,1456	5,0756±0,1020	6,9240±0,2072	8,6703±0,1621
24	4,0594±0,0853	5,2594±0,0442	7,2100±0,0354	9,2929±0,3885
27	4,0952±0,0724	5,3360±0,1170	7,5163±0,1382	10,9018±0,0580

Fuente: Elaboración propia

Del cuadro 17 se observa que el valor de peróxido a 60 °C en el día 27 de almacenamiento es 10,9018 meqO₂/Kg de extracto lipídico, superando el límite máximo de peróxidos permitido de 10 meq O₂/Kg de aceite determinado por el (CODEX ALIMENTARIUS, 1992); razón por la cual las evaluaciones se realizaron hasta los 27 días de almacenamiento.

El análisis de varianza (ANVA) de los datos experimentales se muestra en el Anexo V de donde se encuentra que existe efecto altamente significativo del tiempo y la temperatura de almacenamiento en la formación de peróxidos con $P_{valor} = 0,00$.

POKORNY *et al.* (2001) menciona que un aumento de la temperatura es indeseable, dado su efecto en la aceleración de formación de peróxidos.

ZILLER Y CAMPBELL (1996) indica que uno de los factores que afectan la rapidez de deterioro de las grasas y aceites es la temperatura y tiempo de almacenamiento, observándose que un incremento de la misma aumenta la velocidad de estas reacciones de deterioro.

POKORNY *et al.* (2001) menciona que las reacciones de autooxidación habitualmente presentan un periodo de inducción, durante el cual se producen cambios muy pequeños en los lípidos. Tras el periodo de inducción, el periodo oxidativo de los lípidos se produce mucho más rápidamente; los sabores inadecuados son más notables al final del periodo de inducción.

ROJANO (2008) y BADUI (2006) Los hidroperóxidos, son los primeros productos del proceso de oxidación de lípidos que posteriormente originan una gran variedad de compuestos secundarios volátiles y no-volátiles.

BADUI (2006) manifiesta que los peróxidos alcanzan una concentración máxima para luego disminuir debido a su descomposición; es decir al estudiar una grasa demasiado oxidada, es probable que este índice sea bajo, a pesar que el olor sea característico de reacciones muy avanzadas.

LAWSON (1999) indica que esto resulta de la formación de aldehídos y cetonas que dan a la grasa el sabor rancio seboso

El efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la formación de peróxidos del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado se llevó a la prueba de comparación de medias por Tukey, obteniéndose los resultados mostrados en el cuadro 18.

Cuadro 18. Efecto de la temperatura en el cambio oxidativo (Formación de peróxidos) del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado en almacenamiento.

Temperatura de almacenamiento (°C)	Cantidad	Promedio del valor de peróxidos (meq O ₂ / Kg extracto lipídico)
25	30	3,7428 ^a ± 0,2661
40	30	4,3403 ^b ± 0,7616
50	30	5,3824 ^c ± 1,4731
60	30	6,7049 ^d ± 2,4454

Los valores representan el promedio, los datos provienen del experimento (n=33) valores de una misma fila con superíndices diferentes son significativos (p<0,05), por Tukey

4.6.3 Determinación de los parámetros de cinética para la formación de peróxidos.

- Determinación del orden de reacción (n) y constante de velocidad de reacción (k).

Los resultados mostrados en el cuadro 17, se acondicionaron para realizar la regresión lineal utilizando el modelo de pérdida de calidad propuesto por (LABUZA, 1993) considerando ordenes de reacción cero, uno y dos (n = 0, 1 y 2); los resultados se muestran en los anexos VI y VII, y figuras 12, 13 y 14 respectivamente.

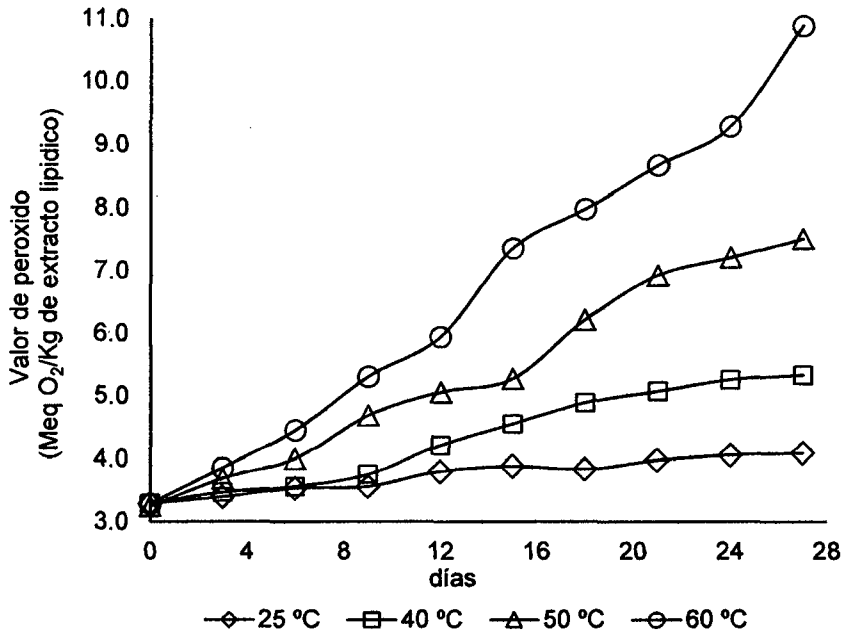


Figura 12. Variación del valor de peróxido del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado almacenado a diferentes temperaturas.

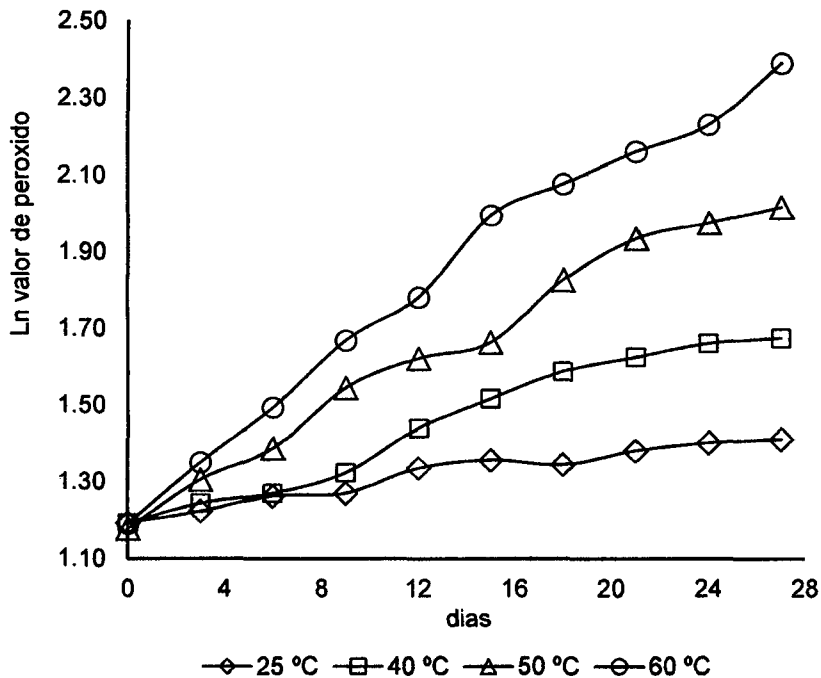


Figura 13. Variación del Ln (valor de peróxidos) del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado almacenado a diferentes temperaturas

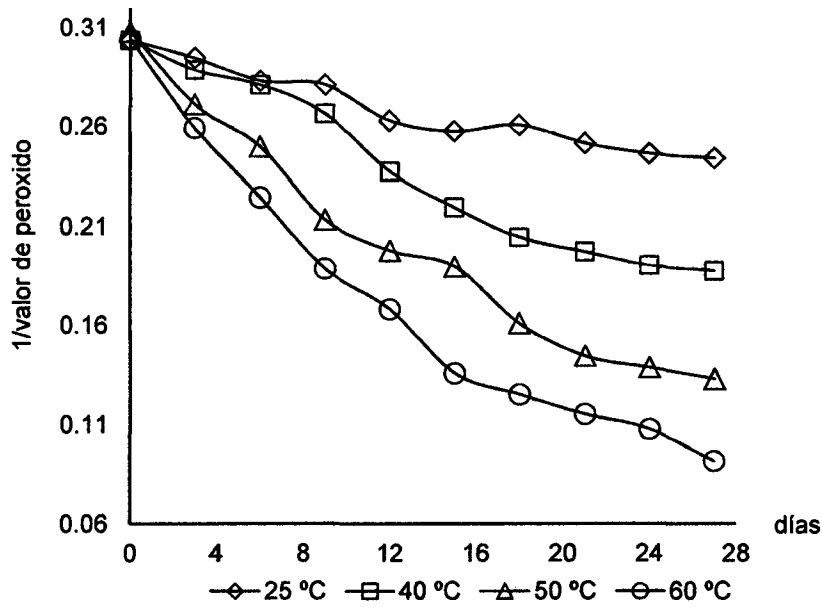


Figura 14. Variación de $1/(\text{valor de peróxidos})$ del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado almacenado a diferentes temperaturas.

En el cuadro 19 se presentan los resultados de la regresión lineal de los valores experimentales obtenidos de la formación de peróxidos (valor de peróxido) considerando los órdenes de reacción cero, uno y dos.

Cuadro 19. Correlación lineal del modelo de (LABUZA, 1993) para órdenes de reacción $n=0,1$ y 2 para la formación de peróxidos del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado almacenado a diferentes temperaturas.

Temperatura T (°C)	ORDEN CERO		ORDEN UNO		ORDEN DOS	
	k	R ²	k	R ²	k	R ²
25	0,0299	0,9605	0,0082	0,9522	0,0022	0,9441
40	0,0841	0,9727	0,0200	0,9697	0,0048	0,9625
50	0,1641	0,9848	0,0321	0,9839	0,0065	0,9558
60	0,2728	0,9870	0,0439	0,9851	0,0076	0,9342

Fuente: Elaboración propia

Del cuadro 19 se promediaron los valores de R^2 de cada orden de reacción. El orden que mejor se ajusta a la cinética de formación de peróxidos del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado es el orden cero con R^2 promedio = 0,9762. SALAZAR *et al.* (2007) indica que los valores de R^2 indicaron que el orden de reacción que más se adaptó al estudio de cinética de deterioro medido por el índice de peróxido del aceite de la semilla de la palma coroba (*Attalea maripa*) fue de orden cero. GARCIA Y MOLINA (2008) reportó que la cinética de deterioro de una mayonesa empleando el índice de peróxidos como indicador almacenado a 21, 35 y 45 °C durante 210, 90 y 42 días, fue de orden cero.

Del análisis de varianza (ANVA) del cuadro 19 (Anexo VIII), se encontró que existe efecto altamente significativo de la temperatura de almacenamiento sobre la velocidad de reacción (k) de formación de peróxidos con ($P_{valor} = 0,00$).

El efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la velocidad de reacción (k) de formación de peróxidos se llevó a la prueba de comparación de medias por Tukey, los resultados son mostrados en el cuadro 20.

Cuadro 20. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la velocidad de reacción (k) de formación de peróxidos del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado.

Temperatura de almacenamiento (°C)	Cantidad	Promedio de velocidad de reacción de formación de peróxido (meqO ₂ /Kg extracto lipídico x días)
25	3	0,0299 ^a ± 0,0037
40	3	0,0841 ^b ± 0,0022
50	3	0,1641 ^c ± 0,0048
60	3	0,2728 ^d ± 0,0091

Los valores representan el promedio, los datos provienen del experimento (n=3) valores de una misma fila con superíndices diferentes son significativos ($p < 0,05$), por Tukey

Del cuadro 20, se observa que existe diferencia significativa entre las velocidades de reacción (k) de formación de peróxidos almacenados a 25, 40, 50 y 60 °C. La velocidad de reacción (k) de formación de peróxidos de la pulpa de aguaje liofilizada a 40 °C (orden 0) es 0,0841 10 meq O₂/Kg de extracto lipídico x días. GARCIA Y MOLINA (2008) reporto velocidades de reacción de 0,173 y 0,365 meq O₂/Kg de extracto lipídico x días, para la formación de peróxidos en una mayonesa almacenada a 35 y 45 °C respectivamente.

4.6.4 Determinación de la energía de activación para la formación de peróxidos utilizando el modelo de Arrhenius.

Las constantes de velocidad de reacción (k) a orden cero a diferentes temperaturas mostrados en el cuadro 19 se acondicionaron para el ajuste al modelo de Arrhenius, los resultados se muestran en el cuadro 21.

Cuadro 21. Constantes de velocidad de reacción (k) de formación de peróxidos del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado acondicionado para el ajuste a la ecuación de Arrhenius linealizada.

Temperatura			ORDEN CERO		
T (°C)	T (°K)	1/°K	k	Ln k	R ²
25	298	0,0034	0,0299	-3,51	0.9605
40	313	0,0032	0,0841	-2,48	0.9727
50	323	0,0031	0,1641	-1,81	0.9848
60	333	0,0030	0,2728	-1,30	0.9870

Fuente: Elaboración propia

Del cuadro 21 se regresiono linealmente el Ln de las velocidades de reacción k y la inversa de la temperatura en °K (Figura 15)

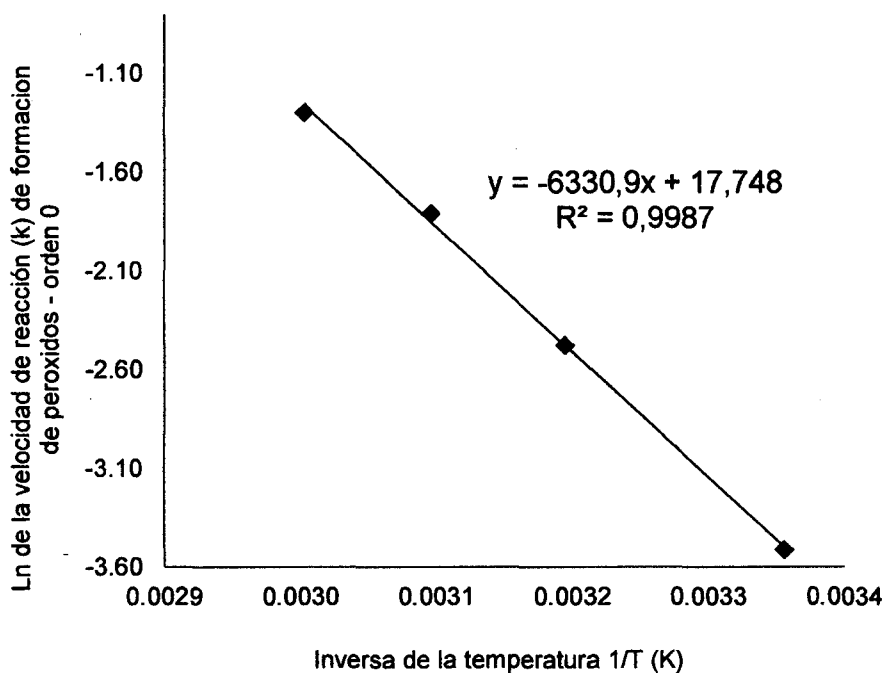


Figura 15. Relación de la constante de velocidad de reacción (k) de formación de peróxidos del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado de orden cero con la inversa de la temperatura ajustada a la ecuación de Arrhenius.

$$k = k_0 e^{\frac{-E_a}{RT}} \longrightarrow \ln k = \ln k_0 - \frac{1 \cdot E_a}{T \cdot R}$$

$$\ln k_0 = 17,748 \longrightarrow k_0 = 5,1 \times 10^7$$

Reemplazando en la ecuación de Arrhenius:

$$k = (5,1 \times 10^7) e^{(-6330,9/T)}$$

La pendiente de la regresión lineal es igual a: $x = -\frac{E_a}{R}$

$$\frac{E_a}{R} = \frac{E_a}{1,98717 \text{ cal. mol}^{-1} \text{ K}^{-1}} = 6330,9$$

$$E_a \text{ orden uno} = 12,58 \text{ kcal/mol}$$

Se obtuvo una energía de activación de 12,58 kcal/mol para la formación de peróxidos del extracto lipídico de la pulpa de aguaje liofilizado que siguió una cinética de orden 0, este valor es menor comparado con GARCIA Y MOLINA (2008) que obtuvo una energía de activación de 19,3 kcal/mol para la cinética de deterioro de orden cero de una mayonesa almacenada a 21, 35 y 45°C durante 210, 90 y 42 días; empleando el índice de peróxidos como indicador y se encuentra dentro del rango reportado por TORRES *et al.* (2001); SAGUY y KAREL (1980) quienes indican que la energía de activación para reacciones de oxidación de lípidos se encuentra en el ámbito de 10 kcal/mol a 25 kcal/mol.

4.7 Estabilidad de pulpa de aguaje liofilizado en función al cambio oxidativo (Formación de peróxidos) medido por el método FOX

4.7.1 Simulación de la constante de velocidad de reacción (k) de la formación de peróxidos

Con la ecuación de Arrhenius obtenida del ajuste a orden cero, se simuló las constantes de velocidad de reacción a diferentes temperaturas los resultados se muestra en el cuadro 22.

Para 20°C = 293°K

Modelo Arrhenius $k = k_0 \cdot e^{-E_a/RT}$

Obtenido: $k = (5,1 \times 10^7) e^{(-6330,9/T)}$

Reemplazando la temperatura:

$$k_{20^\circ\text{C}} = (5,1 \times 10^7) e^{\left(-\frac{6330,9}{293}\right)}$$

$k_{20^\circ\text{C}} = 0,0207 \text{ meqO}_2/\text{kg de extracto lipídico x días.}$

Cuadro 22. Valores de la constante de velocidad de reacción (k) de formación de peróxidos simulado a diferentes temperaturas.

T (°C)	k(simulado)
20	0,0207
25	0,0297
30	0,0421
35	0,0592
40	0,0821
45	0,1129
50	0,1536
55	0,2072
60	0,2768

Fuente: Elaboración propia

4.7.2 Estimación de la estabilidad de la pulpa de aguaje liofilizado

Empleando la ecuación para orden cero planteado por LABUZA (1993).

$$\text{Se tiene: } A = A^0 + kt$$

Se reemplazó los valores de constante de velocidad de reacción (k simulado a 20 °C), el valor inicial de peróxido (IP₀) y el valor límite de peróxido (I.P = 10 meq O₂/Kg de aceite) determinado por el (Codex Alimentarius, 1992) y se despeja el tiempo de estabilidad.

$$I.P = I.P_0 + k.t_s$$

Para 20°C = 293°K

$$t \text{ estabilidad } 20 \text{ °C} = \frac{(10 - 3,2125) \text{ meq O}_2/\text{Kg de extracto lipídico}}{0,0207 \text{ meq O}_2/\text{Kg de extracto lipídico} \times \text{días}}$$

$$t \text{ estabilidad } 20 \text{ °C} = 325 \text{ días} \cong 11 \text{ meses}$$

El extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado presenta una estabilidad química simulada de 325 días a 20°C utilizando el valor de peróxido como indicador de calidad. BRICEÑO *et al.* (2008) menciona que el valor de peróxido es un buen indicador de la calidad de un aceite con respecto a la oxidación, siempre y cuando se tenga la certeza de que el aceite a evaluar no se encuentre en un estado de oxidación avanzada. GARCÍA Y REÁTEGUI (2002), indican que se ha logrado conservar la pulpa de aguaje a temperatura ambiente por 42 días utilizando métodos de factores combinados manipulando deshidratación con temperaturas moderadas y preservantes.

V. CONCLUSIONES

- La estabilidad en almacenamiento de la pulpa de aguaje liofilizada por pruebas aceleradas se estimó en función a la concentración de carotenoides totales y el cambio oxidativo (formación de peróxidos) por el método FOX. Se determinó a 20°C, para que se degraden 50% de carotenoides totales se necesitaron 89 días (3 meses) y 325 días (11 meses) para superar el límite máximo permisible de peróxidos (10 meq O₂/Kg de aceite).
- La cinética de deterioro de carotenoides totales de la pulpa de aguaje liofilizado corresponde al orden de reacción uno con R² promedio = 0,9819. La constante de velocidad de reacción a 20°C fue de 0,0078 días⁻¹.
- El cambio oxidativo (formación de peróxidos) en la pulpa de aguaje liofilizado durante el almacenamiento a (Temperatura ambiente (25°C), 40, 50 y 60 °C) fue 3,2125±0,0766 meq de O₂/Kg de extracto lipídico (0 días) y 4,0952±0,0724; 5,3360±0,1170; 7,5163±0,1382 y 10,9018±0,0580 meq de O₂/Kg de extracto lipídico (27 días) respectivamente.
- La cinética de deterioro de la pulpa de aguaje liofilizado medido por la formación de peróxido corresponde a orden de reacción cero con R² promedio = 0,9762. La constante de velocidad de reacción a 20°C en función a la formación de peróxido fue de 0,0207 meq de O₂/Kg de extracto lipídico x días.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de variación del color de la pulpa de aguaje liofilizado mediante pruebas aceleradas y relacionar con la degradación de carotenoides totales y la formación de peróxidos.
- Realizar estudios con pruebas sensoriales para relacionar el cambio oxidativo por el método de oxidación ferrosa en xilenol naranja FOX en pulpa de aguaje liofilizado.
- Promover la aplicación del método de oxidación ferrosa en xilenol naranja (FOX) para medir la cinética de oxidación de lípidos en alimentos.

VII. ABSTRACT

"EVALUATION OF STABILITY FOR ACCELERATED TESTS, PULP AGUAJE (*Mauritia flexuosa* L.f) LYOPHILISATE YELLOW VARIETY"

In this research the objective was to evaluate the storage stability of lyophilized pulp aguaje by accelerated testing, for this purpose the samples were stored at 25, 40, 50 and 60 °C and evaluated in the total carotenoid content and the formation of peroxides by the oxidation method ferrous xylenol orange (FOX) in 4 and 3 days respectively. The experimental data were fitted to kinetic models of impairment proposed by Labuza (1993) for reaction orders 0, 1, and 2; Arrhenius equation was used to determine the activation energy "Ea" and simulate the reaction rate constant "k". Reaction order $n = 1$, reaction rate constant was determined $k_{20^{\circ}\text{C}}=0,001154$ days⁻¹ and activation energy Ea: 18,72 kcal/mol for the kinetics of total carotenoid content comparable kinetics Total degradation of carotenoids extracted from pericarp lyophilized papaya (*Carica papaya* L) stored at 25°C followed by a reaction order $n = 1$. The peroxide formation kinetics followed a reaction order $n = 0$, reaction rate constant $k_{20^{\circ}\text{C}}=0,0207$ meqO₂/Kg of lipid extract x days and activation energy Ea: 18,72 kcal/mol, which is within the scope of the lipid oxidation reactions. Stability at 20 ° C was simulated and estimated 89 days to degrade to 50% total carotenoids and 325 days to exceed the maximum permissible limit of peroxides (10 meq O₂/kg oil).

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ANGUELOVA, T. Y WARTHESEN, J. 2000. Degradation of lycopene, α -carotene, and β -carotene during lipid peroxidation. *Journal of food science*. Vol. 65 (1). 71-75.
- AOAC.1997. *Official Methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists* 15 ed. EEUU. Vol. I. Cap 41-53.
- BADUI, S. 2006. *Química de los Alimentos*. 4ª edición. Edit. Pearson Addison-Wesley. México. 736p.
- BRICEÑO, L; SALAS, W; TORRES, S. 2008. Determinación del tiempo de vida en anaquel del aceite de oliva extra virgen mediante pruebas aceleradas. *Anales Científicos de la Universidad Agraria La Molina*. Peru – Lima. Vol. 69(4). 82 – 89.
- CEBALLOS, A.; GIRALDO, I.; ORREGO, C. 2012. Effect of freezing rate on quality parameters of freeze dried soursop fruit pulp. *Elsevier Journal of Food Engineering*. Colombia - Manizales. 111 (2012) 360–365.
- CODEX ALIMENTARIUS. 1992. Norma del Codex para el aceite de sesamo comestible. *Codex Stan 26-1981(Rev. 1-1989)*. Vol8
- DERMESONLOUOGLOU, E.; GIANNAKOUREU, M.; TAOUKIS, P. 2007. Kinetic modelling of the degradation of quality of osmo-dehydrofrozen tomatoes during storage. *Elsevier Journal of Food Chemistry*. Athens – Greece. Vol.103. 985–993.

- FENNEMA, O. 2000. Química de los alimentos. Tercera edición. Edit. Acribia S.A. Zaragoza - España. 1258p.
- FRANKEL, E. 1998. Oxidación lipídica. Edit. La prensa. Londres, Inglaterra. 100p.
- GARCIA, R. Y. REATEGUI, M. 2002. Conservación de pulpa de *Mauritia flexuosa* L.F “aguaje” con aplicación de métodos de factores combinados. Revista amazónica de investigación alimentaria. Iquitos, Perú. V.2, Nº 1. 59 - 68.
- GARCÍA, C.; MOLINA, M. 2008. Estimación de la vida útil de una mayonesa mediante pruebas aceleradas. Revista de ingeniería. San José - Costa Rica. Vol.18 (1, 2). 57-64.
- GUERRERO, E.; SANTAMARIA, E.; PEREZ, H. Y LUCIANI, P. 2011. Liofilización de pulpa de aguaje (*Mauritia flexuosa* L. F). TESINA Ing. Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 48p.
- GONZÁLES, A. 2001. Cinética química. Edit. Síntesis S.A. Madrid, España .268p.
- HERNANDEZ, R.; FERNÁNDEZ C. y BAPTISTA L. 2001. Metodología de la investigación. Edit. McGraw – Hill interamericana de editores, S.A Mexico. 503 p.
- KASPER, J.; WIGGENHORN, M.; RESCH, M.; FRIESS, W. 2012. Implementation and evaluation of an optical fiber system as novel process monitoring tool during lyophilization. Elsevier Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. Munich - Germany. Vol. 83. 449–459.
- MURRAY, R.; GRANNER, D.; RODWELL, W. 2007. Harper bioquímica ilustrada. Ed.17ª. Edit. Manual moderno, México DF. 700p.
- MANHAES, L. 2007. Caracterização da polpa de buriti (*Mauritia flexuosa*, Mart): Um potente alimento funcional. Tesis de maestría. Rio de Janeiro – Brasil. 78p.

- MORENO, M. BELEN, D. TORREZ, V. 2003. Degradación cinética de carotenoides obtenidos de frutos de *Carica papaya* L. Scielo Revista de la facultad de agronomía. Caracas - Venezuela. Vol. 20. n2. 378 -398
- NAVARRO, B. 2006. Estudio de las cadenas productivas del aguaje y tagua – reserva nacional pacaya sumiría. Ed. Pro naturaleza - USAID. Lima - Perú. 102 P.
- NAVAS, J. 2005. Optimización y control de la calidad y estabilidad de aceites y productos de fritura. Tesis Doctoral en Farmacia. Barcelona, España. Universidad de Barcelona. 416 p.
- NGUYEN, M. Y SCHWARTZ, S. 1999. Lycopene. Chemical and biological properties. Journal food technology. Vol. 53 (2): 38 - 44
- NOUROOZ-ZADEH, M. 1995. Measurement of hydroperoxides in edible oils using the ferrous oxidation-xylene orange assay. J. Agric. Food Chem. Londres - Inglaterra. Vol.43. 17-21.
- POKORNY, J.; VANISHLIEVA, N.; GORDON, M. 2001. Antioxidantes de los alimentos: Aplicaciones Prácticas. Primera Edición. Editorial Acribia S.A. Zaragoza - España. 353p.
- LABUZA, T. Y HYMAN, C. 1998. Moisture migration and control in multidomain foods. Trends in food science and technology. 47 – 55.
- LABUZA, T. Y RIBOH, D. 1982. Theory and application of arrhenius kinetics to the prediction of nutrients losses in foods. Journal of food technology. Vol.36 (10).66.
- LABUZA, T. Y SCHMIDL, M. 1985. Accelerated shelf-life testing of food. Journal de food technology. Vol. 39(9): 57- 64.
- LABUZA, T. 1993. Shelf-life prediction: theory and application. Elsevier journal of food Science. Vol. 4, (3).125-133.

- LAWSON, H. 1999. Aceites y grasas alimentarias. Tecnología; utilización y nutrición. Edit. Acribia S.A. Zaragoza - España. 333p.
- LUJAN, M. 2010. Evaluación de la estabilidad de la pro vitamina a en la pulpa liofilizada de tres morfotipos de aguaje (*Mauritia flexuosa* L.F). Tesis Ing. Química. Iquitos – Perú. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. 97 p.
- LOPEZ-QUIROGA, E.; ANTELO, L.; ALONSO, A. 2012. Time-scale modeling and optimal control of freeze-drying. Elsevier Journal of Food Engineering. España – Vigo. 111 (2012). 655–666.
- ORREGO, C. 2008. Congelación y liofilización de alimentos. Edit. Artes gráficas tizan. Manizales – Colombia. 197 p.
- RAMIREZ, J. 1996. Liofilización de alimentos. Revista reciteia. Cali – Colombia. Vol. 6 (2). 80p.
- ROJANO, B.; GAVIRIA, C.; JAIRO, S. 2008. Determinación de la actividad antioxidante en un modelo de per oxidación lipídica de mantequilla inhibida por el isoespintanol. REDALYC Revista de la facultad de química farmacéutica. Medellín – Colombia. Vol.15. n 2. 212-218.
- RODRIGUEZ- AMAYA, D. 1999. Changes in carotenoids during processing and storage of foods. Archivos latinoamericanos de nutrición. Campinas – Brasil. 49(1-S): 38-47.
- ROMERO, F. 2008. Estabilidad de vitaminas, vida comercial y bioaccesibilidad de folatos – hierro en fórmulas infantiles de continuación y crecimiento. Tesis Doctoral. Murcia – España. Universidad de Murcia. 226p
- SAGUY, I. Y KAREL, M. 1980. Modeling of quality deterioration during food processing and storage. Journal of food technology. Vol. 34 (2). 78 -84.

- SALAZAR, E.; BELÉN, D.; MARÍN, G.; MORENO, H. 2007. Oxidation kinetics of the oil of the coroba palm (*Attalea maripa*). *Saber journal de ciencias básicas y tecnología*. Vol. 19 N° 2: 172-182.
- SINGH, P. 1996. *Computer applications in food technology: Use of spreadsheets in graphical, statistical, and process analyses*. Edit Watt & Merrill. California, USA. 295p
- SOCHOR, J.; RUTTKAY-NEDECKY, B.; BABULA, P.; ADAM, V.; HUBALEK, J.; KIZEK, R. 2012. Automation of methods for determination of lipid peroxidation. p 132-155. [En línea]: www.intechopen.com.
- TANG, Y.; CHEN, B. 1999. Pigment change of freeze-dried carotenoid powder during storage. *Journal of Food Chemistry*. Taipei - Taiwan. 69 (2000). 11-17
- TORRES, J. 2003. *Determinación de la estabilidad del aceite de girasol coloreado con achiote mediante pruebas aceleradas*. Tesis Ing. Industrias alimentarias. Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima - Perú. 120p.
- TORRES, A.; GUERRA, M.; ROSQUETE, Y. 2001. Estimación de la vida útil de una fórmula dietética en función de la disminución de lisina disponible. *Scielo revista de ciencia y tecnología de los alimentos*. Campinas – Brasil. Vol. 21(2). 129-133.
- TRES, A. 2009. *Incorporación de aceites poliinsaturados, alfa tocoferol y minerales en piensos: Efecto sobre la composición y oxidación lipídica de plasma, hígado y carne de conejo*. Tesis Doctoral Nutrición. Universidad de Barcelona. 275p
- VÁSQUEZ, P.; SOTERO, V.; DEL CATILLO, D.; FREITAS, L.; MILAGROS, M. 2009. Diferenciación química de tres morfotipos de *Mauritia flexuosa* L. F. de la amazonía peruana. *Rev. Soc. Quím. Lima - Perú*. V75. N3. 4-9.

- VILLACHICA, H. 1996. Frutales y hortalizas promisorios de la amazonia. Ed. Tratado de cooperación amazónica. Lima – Perú. 367p
- WEBSTER, A. 2000. Estadística aplicada a los negocios y a la economía. Edit. McGraw – Hill interamericana de editores, Colombia. 345 p.
- WROLSTAD, R.; ACREE, T.; DECKER, E.; PENNER, M.; REID, D.; SCHWARTZ, S.; SHOEMAKER, C.; SMITH, D.; SPORNS, P. 2005. Handbook of food analytical chemistry water, proteins, enzymes, lipids, and carbohydrates. Segunda Edición, New jersey – United States of America. Edit. John Wiley & Sons. 520p
- WROLSTAD, R.; ACREE, T.; DECKER, E.; PENNER, M.; REID, D.; SCHWARTZ, S.; SHOEMAKER, C.; SMITH, D.; SPORNS, P. 2004. Handbook of food analytical chemistry, pigments, colorants, flavors, texture, and bioactive food components. Primera edición. New jersey – United States of America. Edit. John Wiley & Sons. 624p
- ZILLER S.; CAMPBELL, E. 1996. Grasas y aceites alimentarios. Edit. Acribia. Madrid - España. 255p.

IX. ANEXOS

A-I. Análisis de varianza del efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento en el contenido de carotenoides totales de pulpa de aguaje liofilizado.

Fuente variación	Suma cuadrados	GL	CM	Fc	P _{valor}
A: Temperatura	69,6258	3	23,2086	175,04	0,0000
B: Tiempo	115,0360	10	11,5036	86,76	0,0000
Residual	15,6453	118	0,132587		
Total (corregido)	200,307	131			

Fuente: Evaluación propia

A-II. Variación del contenido de carotenoides totales de la pulpa de aguaje liofilizado en almacenamiento a diferentes temperaturas acondicionado para el ajuste a cinética de orden uno.

Tiempo (días)	Ln (Carotenoides totales (mg/100g de aguaje))			
	25 °C	40 °C	50 °C	60 °C
0	1,7211±0,01	1,7211±0,01	1,7211±0,01	1,7211±0,01
4	1,6992±0,01	1,6511±0,01	1,6123±0,02	1,5481±0,02
8	1,6735±0,01	1,5951±0,03	1,4715±0,01	1,3822±0,06
12	1,6155±0,01	1,5378±0,02	1,3466±0,04	1,2289±0,06
16	1,5912±0,01	1,4193±0,06	1,2124±0,03	1,0320±0,08
20	1,5494±0,01	1,3438±0,04	1,1448±0,04	0,9753±0,03
24	1,5484±0,02	1,3340±0,01	1,1068±0,01	0,8301±0,03
28	1,5168±0,01	1,2934±0,01	1,0260±0,04	0,7396±0,02
32	1,4646±0,01	1,2535±0,01	0,9467±0,03	0,5498±0,03
36	1,4196±0,00	1,1952±0,02	0,7568±0,03	0,3207±0,10
40	1,3944±0,01	1,1584±0,02	0,5830±0,02	0,0721±0,04

Fuente: Elaboración propia

A-III. Variación del contenido de carotenoides totales de la pulpa de aguaje liofilizado en almacenamiento a diferentes temperaturas acondicionado para el ajuste a cinética de orden dos.

Tiempo (días)	1 / (Carotenoides totales (mg/100g de aguaje))			
	25 °C	40 °C	50 °C	60 °C
0	0,1789±0,00	0,1789±0,00	0,1789±0,00	0,1789±0,00
4	0,1828±0,00	0,1918±0,00	0,1995±0,00	0,2127±0,00
8	0,1876±0,00	0,2029±0,01	0,2296±0,00	0,2513±0,01
12	0,1988±0,00	0,2149±0,00	0,2603±0,01	0,2929±0,02
16	0,2037±0,00	0,2421±0,01	0,2976±0,01	0,3570±0,03
20	0,2124±0,00	0,2610±0,01	0,3185±0,01	0,3772±0,01
24	0,2126±0,00	0,2634±0,00	0,3306±0,00	0,4362±0,01
28	0,2194±0,00	0,2744±0,00	0,3586±0,02	0,4773±0,01
32	0,2312±0,00	0,2855±0,00	0,3881±0,01	0,5773±0,02
36	0,2418±0,00	0,3027±0,00	0,4693±0,01	0,7280±0,07
40	0,2480±0,00	0,3140±0,01	0,5583±0,01	0,9310±0,04

Fuente: Elaboración propia

A-IV. Análisis de varianza del efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento sobre la velocidad de degradación de carotenoides totales de pulpa de aguaje liofilizado

Fuente variación	Suma cuadrados	GL	CM	Fc	P _{valor}
Temperatura	0,00159409	3	0,00053136	1756,57	0,0000
Residual	0,00000242	8	3,025EXP ⁻⁷		
Total (corregido)	200,307	11			

Fuente: Evaluación propia

A-V. Análisis de varianza del efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento en la formación de peróxidos (Valor de peróxido) del extracto lipídico de la pulpa de aguaje liofilizado

Fuente variación	Suma cuadrados	GL	CM	Fc	P _{valor}
A: Temperatura	151,843	3	50,6144	67,21	0,0000
B: Tiempo	174,856	9	19,4284	25,80	0,0000
Residual	80,5786	107	0,753071		
Total (corregido)	407,278	119			

Fuente: Evaluación propia

A-VI. Variación de la formación de peróxidos en almacenamiento a diferentes temperaturas del extracto lipídico de la pulpa de aguaje liofilizado acondicionado para el ajuste a cinética de orden uno.

Tiempo (días)	Ln (Valor de peróxido (meq O ₂ / Kg de extracto lipídico))			
	25 °C	40 °C	50 °C	60 °C
0	1,1918±0,0233	1,1918±0,0233	1,1778±0,0124	1,1903±0,0210
3	1,2224±0,0159	1,2432±0,0210	1,3046±0,0168	1,3494±0,0121
6	1,2622±0,0163	1,2693±0,0211	1,3870±0,0155	1,4934±0,0144
9	1,2692±0,0288	1,3225±0,0177	1,5445±0,0333	1,6682±0,0405
12	1,3347±0,0081	1,4379±0,0238	1,6212±0,0243	1,7823±0,0068
15	1,3560±0,0046	1,5161±0,0128	1,6629±0,0146	1,9956±0,0221
18	1,3440±0,0161	1,5873±0,0261	1,8268±0,0100	2,0770±0,0069
21	1,3803±0,0367	1,6243±0,0202	1,9347±0,0300	2,1598±0,0186
24	1,4009±0,0210	1,6600±0,0084	1,9755±0,0049	2,2287±0,0408
27	1,4097±0,0178	1,6743±0,0220	2,0170±0,0184	2,3889±0,0053

Fuente: Elaboración propia

A-VII. Variación de la formación de peróxidos en almacenamiento a diferentes temperaturas del extracto lipídico de la pulpa de aguaje liofilizado acondicionado para el ajuste a cinética de orden dos.

Tiempo (días)	1 / (Valor de peróxido (meq O ₂ / Kg de extracto lipídico))			
	25 °C	40 °C	50 °C	60 °C
0	0,3037±0,0071	0,3037±0,0071	0,3080±0,0038	0,3042±0,0064
3	0,2945±0,0047	0,2885±0,0061	0,2713±0,0045	0,2594±0,0031
6	0,2831±0,0046	0,2811±0,0059	0,2498±0,0039	0,2246±0,0032
9	0,2811±0,0081	0,2665±0,0047	0,2135±0,0072	0,1887±0,0076
12	0,2632±0,0021	0,2375±0,0056	0,1977±0,0048	0,1683±0,0012
15	0,2577±0,0012	0,2196±0,0028	0,1896±0,0028	0,1359±0,0030
18	0,2608±0,0042	0,2045±0,0053	0,1609±0,0016	0,1253±0,0009
21	0,2516±0,0092	0,1971±0,0040	0,1445±0,0043	0,1154±0,0021
24	0,2464±0,0051	0,1901±0,0016	0,1387±0,0007	0,1077±0,0044
27	0,2442±0,0044	0,1875±0,0041	0,1331±0,0024	0,0917±0,0005

Fuente: Elaboración propia

A-VIII. Análisis de varianza del efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento sobre la velocidad de formación de peróxidos del extracto lipídico de pulpa de aguaje liofilizado

Fuente variación	Suma cuadrados	GL	CM	Fc	P _{valor}
Temperatura	0,103513	3	0,0345044	1087,27	0,0000
Residual	0,00025388	8	0,00003173		
Total (corregido)	0,103767	11			

Fuente: Evaluación propia