

ESTABILIDAD Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA PULPA LIOFILIZADA DE TRES MORFOTIPOS DE AGUAJE (*Mauritia flexuosa* L. f.)

Víctor Sotero¹, Mara Luján², Luis Freitas¹, Claudia Merino¹, Éricka Dávila¹

RESUMEN

Las pulpas de tres morfotipos de aguaje (*Mauritia flexuosa* L.f): Amarillo, Color y Shambo, procedentes de la Amazonía peruana, fueron liofilizadas y sometidas a los siguientes ensayos: a) Humedad de equilibrio, utilizando el método estático, para obtener sus isotermas de adsorción y ajustando los resultados con la ecuación de B.E.T., con la finalidad de determinar si estas muestras son higroscópicas o no. b) Encapsulado de la harina y almacenamiento a 30 °C por seis meses, para evaluar la estabilidad de los componentes bromatológicos y β -caroteno (determinado por el método espectrofotométrico a $\lambda=450$ nm). c) Evaluación de la actividad antioxidante, utilizando el método de captura de los radicales libres DPPH. De acuerdo a los resultados obtenidos se observó que en las pulpas liofilizadas, la concentración de ciertos componentes para los morfotipos Amarillo, Color y Shambo fueron: Aceite de 48,23%, 33,44% y 47,47%; proteínas de 6,56%, 5,59% y 6,25%, β -caroteno de 14,6 mg/100g, 10,3 mg/100g y 6,3 mg/100g; calcio 6472,68 mg/100g; 7535,52 mg/100g y 15128,42 mg/100g, respectivamente. Las pulpas liofilizadas de los tres morfotipos se encuentran en la zona seca (de 0 a 25%) donde las isotermas se ajustan con la ecuación de B.E.T. La degradación del β -caroteno para los morfotipos Amarillo, Color y Shambo después de seis meses fue de: 56,85%, 79,61% y 38,10%, respectivamente. El morfotipo Color presentó mejor actividad antioxidante con un valor de IC_{50} de 3286,8 μ g/mL, en comparación con los morfotipos Shambo y Amarillo que registraron valores de IC_{50} de 6943,4 μ g/mL y 9230,4 μ g/mL.

Palabras clave: Aguaje, *Mauritia flexuosa*, liofilizado, antioxidantes

STABILITY AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF FREEZE-DRIED FLOUR OF THREE MORPHOTYPES OF AGUAJE (*Mauritia flexuosa* L. f.)

ABSTRACT

Pulp of three morphotypes of aguaje (*Mauritia flexuosa* L.f): Yellow, Colour and Shambo were freeze dried operation, realized their chemical analysis and this product was submitted to the following trials: a) Humidity of equilibrium, utilizing the static method, being obtained this isotherms of adsorption and adjusting the results with the equation of B.E.T., to determine if these samples are hygroscopic or not. b) Encapsulated of the flour and stored to 30°C for six months, for evaluate the stability of the nutritional components and β -carotene utilizing for this the spectrophotometric method at a length of wave of 450 nm. c) Evaluation of the antioxidant activity, utilizing the free radicals scavenging of the DPPH. According to the results was observed that the freeze-dried pulp of the three morphotypes, the concentration of

¹ Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), e-mail: proyectopalmeras@gmail.com

² Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP), Iquitos, Perú. Tesista del Programa PROBOSQUES - IIAP. E-mail: maralu32@hotmail.com

several components for morphotypes Yellow, Colour and Shambo were: oil of 48.23%, 33.44% and 47.47%; proteins of 6.56%, 5.59% y 6.25%, β -carotenes of 14.6 mg/100g, 10.3 mg/100g y 6.3 mg/100g, calcium 6472.68 mg/100g; 7535.52 mg/100g and 15128.42 mg/100g, respectively. freeze-dried pulps are in the dry zone (from 0 to 25%) and the isotherms are adjusted with the equation of B.E.T. Degradation of β -carotene for the Yellow, Colour and Shambo morphotypes were of: 56.85%, 79.61% y 38.10%. Color morphotype presented the best antioxidant activity with 3286.8 μ g/mL, with respect to Shambo and Yellow which registered the following IC_{50} values: 6943.4 μ g/mL and 9230.4 μ g/mL, respectively.

Key words: Aguaje, *Mauritia flexuosa*, freeze dried, antioxidants.

INTRODUCCIÓN

El aguaje (*Mauritia flexuosa* L.f.) es una palmera nativa de la amazonía y desempeña un papel importante en la compleja cadena alimentaria del bosque tropical debido a que su fruto es un alimento importante de especies de la biodiversidad amazónica¹. Los extractores reconocen hasta tres tipos de aguaje por el color de los frutos: “amarillo” cuando todo el mesocarpio es de color amarillo, “color” cuando la parte externa del mesocarpio es rojo y el resto amarillo y “shambo” cuando todo el mesocarpio es rojo². Según investigaciones realizadas con el aceite de estos tres morfotipos encontraron que contenían 26,4; 34,2 y 28,4 mg/100g de β -caroteno para Color, Amarillo y Shambo, respectivamente.³

Investigadores partiendo del conocimiento de deficiencia en vitamina A en países en vías de desarrollo indican que en la región San Martín (selva alta en Perú) existe una prevalencia de niveles deficientes de vitamina A de 8,1%. Realizaron estudios con 52 niños menores de cinco años en una comunidad de esta región y constataron que los niveles de sericos de retinol fueron de 65,4% con nivel mayor a 30 g/dl, un 28,8% entre 20 y 30 g/dl y un 5,8% con menos de 20 g/dl. Por tal motivo, recomiendan consumir alimentos regionales como pijuayo, para suplir esta deficiencia⁴.

Actualmente, es factible obtener pulpa de frutos deshidratados utilizando las operaciones de secado en estufa, secadores solares, atomización o liofilización. Entre éstos, uno de los procesos más adecuados es la liofilización, que genera la deshidratación por congelación y sublimación, bajo condiciones cuidadosamente controladas de presión y temperatura, para dejar una estructura que revierta el estado previo, por adición de agua⁵. Estos procesos son muy importantes para incrementar el contenido vitamínico de la pulpa del aguaje, así como para conservar la pro-vitamina A por el mayor tiempo posible sin sufrir mayor disminución, ya que es considerada la más sensible y lábil, susceptible de deteriorarse fácilmente por oxidación, cambios de pH, temperatura y acción de la luz, entre otros⁶.

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 preservantes⁷.

Las cápsulas son masas sólidas o semisólidas principalmente de gelatina y que se utilizan para administrar polvos, suspensiones o líquidos. Existen riesgos en la preparación de cápsulas, como la humedad; debe evitarse el uso de materiales higroscópicos; el almacenamiento debe ser en lugares secos y frescos⁸. Para obtener la estabilidad de un producto encapsulado, la USP23/NF18 Pharmacopeia⁹, indica que se debe realizar el análisis de estabilidad para determinar el uso, tiempo de vida útil, propiedades y características que posee un producto al momento de su fabricación.

El objetivo del presente trabajo fue realizar la evaluación de la estabilidad de la pro-vitamina A en la pulpa liofilizada de tres morfotipos de aguaje (*Mauritia flexuosa* L.f.).

PARTE EXPERIMENTAL

Las muestras de frutos de aguaje fueron recolectadas en las comunidades de Aucayo, Libertad y Centro Unión, ubicadas en la cuenca baja del río Amazonas, distrito de Fernando Lores, provincia de Maynas en la Región Loreto; se recolectaron en forma manual en estado pintón, evidenciado por el color, firmeza al tacto del fruto, y ausencia de daños. Después de recolectar los frutos se separaron del racimo, lavaron con abundante agua limpia para remover los residuos y la tierra que recogió durante la cosecha.

Después del proceso de adecuación se procedió al tratamiento de maduración el cual consiste en sumergir los frutos completamente en agua limpia a una temperatura de 60°C durante un lapso de 4 a 6 horas. El despulpado de los frutos se realizó en forma manual.

Liofilizado

La pulpa de aguaje fue previamente congelada y después deshidratada a - 50°C en un equipo LABCONCO de 4,5 L, y a 700 mm de Hg.

Determinación de humedad de equilibrio experimental

Se utilizó el método estático, para lo cual las muestras de aguaje liofilizadas se colocaron en desecadores con diferentes soluciones saturadas. Se dejaron en los desecadores hasta alcanzar el equilibrio, después de retirar las muestras fueron pesadas en balanza analítica, y así obtener la humedad en equilibrio, de manera que se pueda construir las isotermas de adsorción, lo cual se verificó cuando el peso de las muestras se hizo constante. Se realizó tres repeticiones de cada punto de las curvas. Las muestras en equilibrio se llevaron a una estufa de aire forzado para determinar la humedad del aguaje liofilizado. Las isotermas de absorción se realizaron utilizando el modelo de la ecuación dada por Brunauer, Emmett y Teller (B.E.T.)¹⁰.

Determinación de la composición química (análisis bromatológico)

Las determinaciones de humedad, grasas, proteínas y cenizas se realizaron siguiendo los protocolos dados por el Instituto Adolfo Lutz¹¹.

Análisis de estabilidad

Las muestras de pulpa liofilizadas de los tres morfotipos fueron encapsuladas en recipientes de gelatina blanda y estos fueron sometidos a la prueba de estabilidad intermedia, según las indicaciones dadas por la USP23/NF18 Pharmacopeia⁹, para lo cual se incubaron por seis meses, obteniéndose alícuotas cada tres meses para los análisis de vitamina A.

Análisis de β -caroteno

Se realizó por el método espectrofotométrico¹². Se utilizó un equipo Agilent Technologies Cary 60 UV/vis.

Elementos

Se utilizó el método espectrofotométrico a la flama, de absorción atómica¹³. El equipo empleado fue Varian AA 240.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las muestras de aguaje antes de ser sometidas al proceso de deshidratación, fueron previamente pesadas para determinar el rendimiento que se obtiene cuando se encuentran secas; los resultados experimentales se indican en la tabla 1, donde se dan los pesos y rendimientos de los tres morfotipos. La diferencia que se obtiene por cada peso es aproximadamente un 25% de muestra, deshidratándose aproximadamente un 75% de agua contenida en cada morfotipo. En la tabla 2 se presentan los resultados de los análisis bromatológicos de los tres morfotipos de aguaje, observándose una mayor concentración de aceite en el morfotipo Color con 34,47%, comparado con Amarillo y Shambo, que presentan 18,73 y 21,54%, respectivamente.

Tabla 1. Peso de aguaje de pulpa fresca y liofilizada

| Ítem | Amarillo | Color | Shambo |
|---------------------------------|----------|--------|--------|
| Peso de inicio, kg./gr. | 1366,0 | 1782,0 | 980,0 |
| Peso final liofilizado, kg./gr. | 368,6 | 455,8 | 250,4 |
| Rendimiento, % | 26,98 | 25,58 | 25,55 |

Tabla 2. Análisis bromatológicos de pulpa de aguaje.

| Parámetro | Pulpa de aguaje (sin liofilizar) | | |
|---------------|----------------------------------|-------|--------|
| | Amarillo | Color | Shambo |
| Humedad % | 48,34 | 53,85 | 59,59 |
| Cenizas % | 1,02 | 1,43 | 1,28 |
| Aceites % | 18,73 | 34,47 | 21,54 |
| Proteínas % | 2,10 | 2,36 | 3,6 |
| Carbohidratos | 29,81 | 7,89 | 13,99 |

La tabla 3 muestra el valor de los micronutrientes. Asimismo, se observa que la concentración en todos los metales obtenidos prácticamente es 10 veces más que lo obtenido por Vásquez³, al trabajar con pulpa fresca de aguaje de los tres morfotipos. Este resultado es concordante, debido a la pérdida de humedad por la pulpa del aguaje, al ser sometida a la liofilización. Dando como ventaja el consumo de este producto, debido a la cantidad de minerales que posee, como es el caso del calcio que varía de 7535,32 a 15128,42 mg/100g, de esencial importancia en el metabolismo humano, ya que aproximadamente, el 2% del cuerpo humano adulto es calcio. El 99% de calcio y 75% fósforo, son encontrados como constituyentes de los huesos y dientes, dándoles fuerza y rigidez¹⁴.

Tabla 3. Elementos obtenidos en el aguaje liofilizado de tres morfotipos.

| Elemento | Amarillo mg/100g | Color mg/100g | Shambo mg/100g |
|-----------|------------------|---------------|----------------|
| Calcio | 6472,68 | 7535,52 | 15128,42 |
| Potasio | 1673,37 | 2488,16 | 1420,93 |
| Sodio | 331,13 | 220,42 | 350,43 |
| Magnesio | 212,57 | 171,43 | 141,08 |
| Manganeso | 2,03 | 16,28 | 15,59 |
| Zinc | 8,25 | 1,33 | 3,05 |
| Cobre | 2,32 | 1,21 | 0,52 |
| Fierro | 1,43 | 2,67 | 1,33 |

Las isotermas de adsorción obtenidas de las muestras expuestas a la temperatura ambiente (27 °C) y a actividades de agua de 0,3% a 8,0 % se muestran en las figura 1. Estas gráficas presentan una relación de humedad en equilibrio de pulpa de aguaje liofilizado con la humedad relativa (HR). Las isotermas de adsorción se dividen en tres zonas en función de la actividad del agua, desde la zona I (seca) a la zona III (de alta humedad)¹⁵. Las isotermas de adsorción del aguaje liofilizado muestra la zona I, donde el agua del fruto es más fuertemente adsorbida y más inmóvil; la aw va de 0 a 25%. Esta agua no puede intervenir en reacciones

como disolvente, tampoco se congela y es difícil de eliminar en deshidratación. En estas gráficas se pueden observar que según la clasificación de B.E.T., las isotermas de Shambo y Amarillo estarían en la clasificación II, isoterma conocida como sigmoide, característica de productos solubles y la de Color, en el tipo IV, con absorción de un producto hidrófilo¹⁶ (figuras 2, 3 y 4).

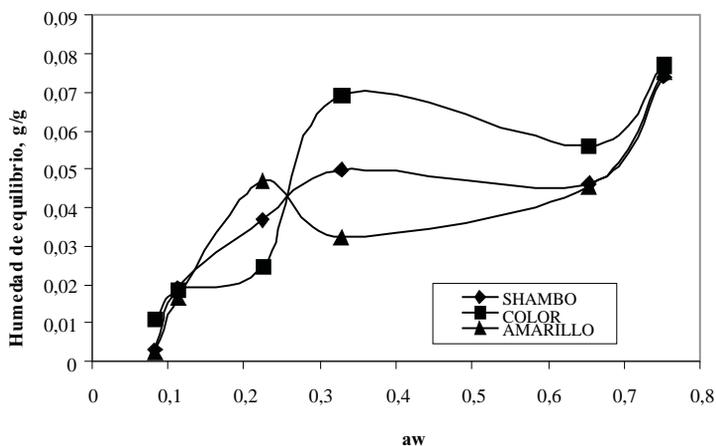


Figura 1. Isotermas de adsorción de tres morfotipos de aguaje liofilizado a 27 °C

Tabla 4. Comportamiento químico de muestras liofilizadas de aguaje, para los morfotipos Amarillo, Color y Shambo.

| Ensayo | Tiempo cero | | | Tres meses | | | Seis meses | | |
|---------------------------|-------------|-------|--------|------------|-------|--------|------------|-------|--------|
| | Amarillo | Color | Shambo | Amarillo | Color | Shambo | Amarillo | Color | Shambo |
| Bromatológico | | | | | | | | | |
| Humedad % | 3,19 | 7,18 | 2,58 | 7,15 | 8,73 | 7,17 | 9,06 | 9,06 | 7,41 |
| Cenizas % | 2,24 | 2,94 | 2,30 | 1,93 | 2,32 | 1,91 | 1,99 | 2,48 | 1,91 |
| Aceites % | 48,23 | 33,49 | 47,47 | 25,38 | 62,16 | 49,79 | 64,03 | 24,25 | 46,82 |
| Proteínas % | 6,56 | 5,69 | 6,25 | 13,4 | 7,87 | 11,08 | 13,56 | 11,37 | 14,44 |
| β-caroteno mg/100g | 14,6 | 10,3 | 6,3 | 11,9 | 10,8 | 2,1 | 6,3 | 2,1 | 3,9 |

Tabla 5. Evaluación de la actividad antioxidante, como porcentaje de inhibición del radical DPPH por la pulpa liofilizada de tres morfotipos de aguaje.

| Morfotipo | %Inhibición | | | | IC50 ug/mL |
|-----------|-------------|------------|------------|-----------|------------|
| | 10000 ug/mL | 3000 ug/mL | 1000 ug/mL | 300 ug/mL | |
| Amarillo | 52,07 | 25,37 | 10,78 | 8,04 | 9230,4 |
| Color | 62,00 | 32,24 | 16,62 | 6,72 | 3286,8 |
| Shambo | 70,37 | 38,09 | 17,59 | 9,05 | 6943,4 |

De acuerdo a la tabla 4, donde se dan las muestras liofilizadas encapsuladas y sometidas al análisis de estabilidad por seis meses a temperatura de 30°C; se observa un incremento de humedad en los tres morfotipos, lo que conlleva a variaciones de los otros componentes. Observando los resultados de estabilidad del β -caroteno encapsulado conteniendo la pulpa de aguaje liofilizado, por un lapso de 180 días, se observa que la concentración inicial, prácticamente triplica lo obtenido por Vásquez¹⁷, al trabajar con pulpa seca. Este resultado es concordante, debido a la pérdida de humedad por la pulpa del aguaje, al ser sometida a la operación de deshidratado por liofilización. Del mismo modo esta cifra es superior a la de pulpa fresca de aguaje¹⁸; se reportan valores entre 11,05 mg/100g a 35,8 mg/100g, y al de umarí que presenta entre 7,9 mg/100g y 15,3 mg/100g¹⁹.

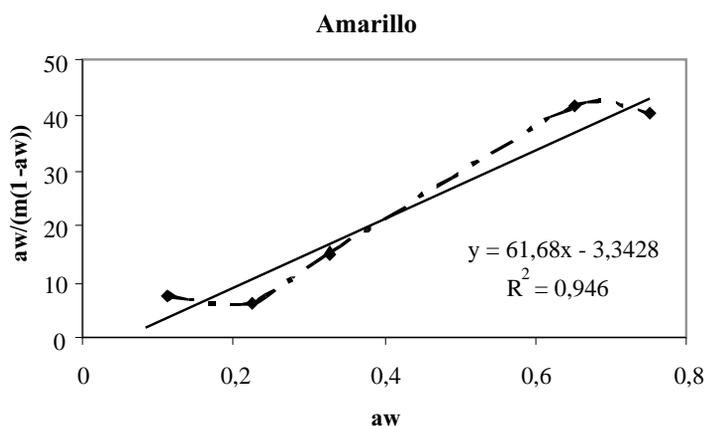


Figura 2. Isoterma ajustada a la ecuación de B.E.T. para harina de aguaje (Amarillo)

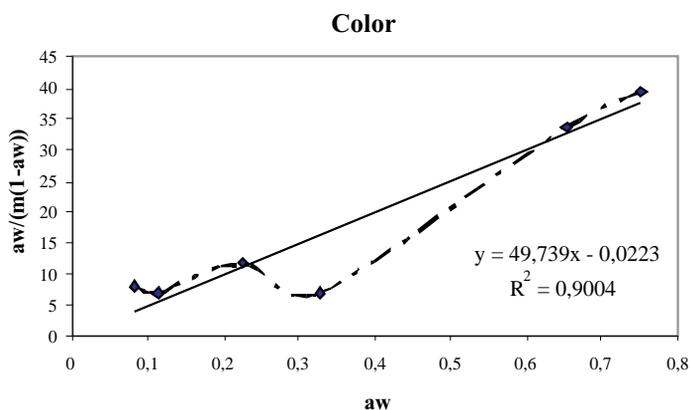


Figura 3. Isoterma ajustada a la ecuación de B.E.T. para harina de aguaje (Color)

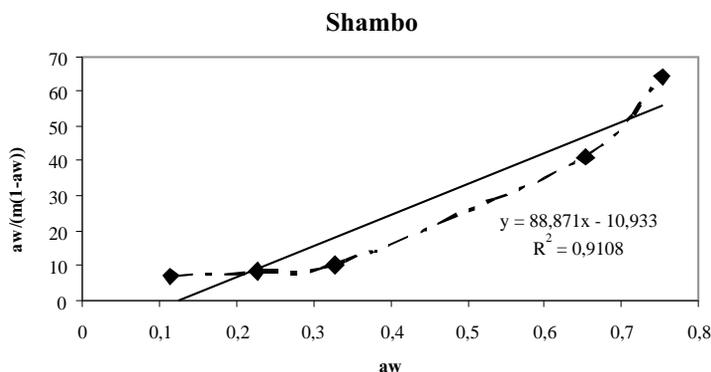


Figura 4. Isoterma ajustada a la ecuación de B.E.T. para harina de aguaje (Shambo)

En la *tabla 5*, se presenta el porcentaje de inhibición de la pulpa de aguaje liofilizado; se observa que en todas las concentraciones efectuadas el morfotipo Shambo presenta mayor actividad antioxidante. Las IC_{50} obtenidas fueron $>50\%$. Estos datos demuestran una actividad antioxidante moderada si se compara con la pulpa, cáscara y semilla de camu camu, los cuales presentan a 300 $\mu\text{g/ml}$ una actividad antioxidante de 75,33, 76,64 y 43,54, respectivamente²⁰.

CONCLUSIONES

En los análisis bromatológicos se observa que a medida que transcurre el tiempo las muestras encapsuladas se vuelven inestables mostrando diferentes variaciones en: humedad, cenizas, aceites y proteínas.

Según la clasificación dada para las isotermas de absorción, las de Shambo y Amarillo estarían en la clasificación II, característica de productos solubles y la de Color en el tipo IV, con absorción de un producto hidrófilo.

La determinación de carotenos durante su almacenamiento a temperatura de 30°C se nota una leve degradación oxidativa lo que nos indica presencia de inestabilidad en la muestra. La mejor actividad antioxidante la presentó el morfotipo Color, seguido de Shambo y finalmente el Amarillo.

AGRADECIMIENTO

El presente estudio se realizó con el apoyo financiero de proyectos INCAGRO dentro del proyecto “Mejoramiento genético, caracterización molecular y tecnologías de alto valor agregado del aguaje (*Mauritia flexuosa* L.f) de la Amazonía”

BIBLIOGRAFÍA

1. Flores, S. Cultivo de Frutales Nativos Amazónicos. Manual para el extensionista. Lima: Mirigraf S.R.L., p. 7-14. 1997.
2. Rojas, R. *En*: Fundación Peruana para la Conservación de la Naturaleza – Pro Naturaleza. Estudio de las cadenas productivas de aguaje y tagua, Reserva Nacional Pacaya Samiria, Loreto – Perú, 103 p. 2006.

3. Vásquez, P.; Sotero, V.; Del Castillo, D.; Freitas, L.; Maco, M. Diferenciación química de tres morfotipos de *Mauritia flexuosa* Lf, de la Amazonía peruana, *Rev Soc Quím Perú*, 2009; 75(3): 320-328.
4. Alva, I.; Blas, M.; De los Santos, V.; Grados, F.; Gutiérrez, M. Prevalencia de la deficiencia de vitamina A en niños menores de 5 años en una comunidad rural de la selva peruana, *Pediátrica*, 2004; 8(1): 7-12.
5. Amos, J. Manual de industrias alimentarias. Ed. Acribia Zaragoza, 240 p. 1986.
6. Belitz, D. R.; Grosch, W. Química de los alimentos. Ed. Acribia Zaragoza, p. 180. 1985.
7. García, R.; Reátegui, D. Conservación de pulpa de *Mauritia flexuosa* L, “aguaje”, con aplicación de métodos de factores combinados, *Rev Amazónica de Investigación Alimentaria* (RAIA), 2002; 2(1):59-68.
8. Martín, N.A. Principios de Físico-Química para Farmacia y Biología. Ed. Alambra S.A. México, p. 611- 638. 1970.
9. United States Pharmacopeial Convention, USP 23 /NF 18 States Pharmacopoeia, 22 ed. Easton: Mack Printing, 1963.
10. Brunauer, S. Emmett, P.H. and Teller, E. (B.E.T.). Adsorption of gases in multimolecular layers, *J, Am, Chem, Soc*, 1938; 60:309-314.
11. Adolfo, Lutz. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 2^{ed}. São Paulo, Vol. 1, 583 p. 1985.
12. Higby, K. A simplified method for determination of the carotenoid distribution in natural and carotene fortified orange juice, *J, Food Sci*, 1962; 27:42-49.
13. Osborne, D.R.; Vgogt, P. Análisis de los nutrientes de los alimentos, Zaragoza. Ed. Acribia S.A., 258 p. 1986.
14. Mitchell, H.; Rynbergen, H.; Anderson, L.; Dibbe, M. Nutrição, 16^{ed}. Ed Intercontinental, Río de Janeiro, p. 57-73. 1978.
15. Fennema, O.R.; Food Chemistry, 2nd Edition, Marcel Dekker, Inc. N. Y., 1069p. 1997.
16. Andrade, R.; Lemus, R.; Pérez, C. Models of sorption isotherms for food uses and limitation, *Vitae Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*, Medellín, 2011; 18(3): 325-334.
17. Vásquez, P.; Freitas, L.; Torres, R.; Mancini-filho, J.; Sotero, V. Chemical characterization and oxidative stability of the oils from three morphotypes of *Mauritia flexuosa* L.f., from Peruvian Amazon, *Grasas y Aceites*, 2010; 61(4):390-397.
18. Yuyama, O.; Yonekura, L.; Aguiar, J. Sousa, R. Biodisponibilidade dos carotenóides do buriti (*Mauritia flexuosa* L.) em ratos. *Acta amazônica*, Manaus, 1998; 28(4): 409- 415.
19. Marinho, H.A.; Castro, J.S. Carotenóides e valor da provatamina A em frutos da região amazônica: pajurá, piquia, tucuma e umari. In: XVII Congresso brasileiro de fruticultura, Belém, Anais, Belém, 17p. 2002.
20. Sotero, V.; Silva, L.; Garcia, D.; Iman, S. Evaluación de la actividad antioxidante de la pulpa, cáscara y semilla del fruto del camu camu, *Rev Soc Quim Perú*, 2009; 75 (3): 293-299.