



Estudio de pigmentos en palta Hass

Alumnos: Espósito, M. y Recoba, S.

Asignaturas: Química General (III), I.A.Q., Biorgánica, Microbiología, Física (III) y Matemática (III).

“Química Industrial” 3°BG UTU Pando.

Docentes: Britos, R., Gatto, A., Boscana, N., Brum, P., Cuenca, A. y Tejera, F.

ÍNDICE

Página

1. RESUMEN	4
2. PALABRAS CLAVES	4
3. INTRODUCCIÓN	4
3.1 Objetivo general.....	5
3.2 Objetivos específicos.....	5
3.3 Pregunta investigable.....	5
3.4 Hipótesis.....	5
4. MARCO TEÓRICO	
4.1 La palta.....	5
4.1.1 Exigencias climáticas.....	6
4.1.2 Historia de la palta.....	6
4.1.3 Variedades de palta.....	6
4.1.4 Propiedades nutricionales.....	7
4.1.5 Composición química y bioquímica de la palta.....	7
4.2 Pigmentos carotenoides.....	8
4.2.1 Betacaroteno.....	8
4.2.2 Clorofilas.....	9
4.3 Propiedades antioxidantes de los carotenoides.....	10
4.3.1 Acción del betacaroteno.....	12
4.4 Higienización de frutas.....	12
4.5 Microorganismos presentes en la palta.....	13
4.5.1 Salmonella.....	13
4.5.2 Listeria.....	15
4.5.3 Bacterias.....	16
4.6 Medios de cultivo microbiano.....	16
4.6.1 Clasificación de medios de cultivo.....	16
4.7 Autoclave.....	18
4.7.1 Parámetros que hay que controlar en un autoclave.....	18
4.8 Cromatografía en capa fina.....	19
4.8.1 Desarrollo de la cromatografía en capa fina.....	19
4.9 Centrifugadora.....	19
4.10 Espectrofotómetro.....	20
4.10.1 Región UV.....	21
4.10.2 Región visible.....	21
4.10.3 Transmitancia.....	21
4.10.4 Absorbancia.....	21
4.11 Antecedentes.....	22
4.11.1 Pigmentos.....	22
4.11.2 Betacaroteno.....	22
4.11.3 Clorofilas a y b.....	22
4.11.4 Microorganismos presentes en palta Hass.....	22
5. METODOLOGÍA	
5.1 Plan de muestreo.....	23

5.2 Transporte de la materia prima.....	24
5.3 Preparación de la materia prima.....	24
5.4 Determinación de efectividad de diferentes lavados.....	24
5.4.1 Esterilización del material.....	24
5.4.2 Lavado de la materia prima.....	24
5.4.3 Cultivo de microorganismos.....	25
5.5 Identificación de pigmentos.....	25
5.6 Concentración de betacaroteno.....	25
5.7 Concentración de clorofila a y b.....	25
6. RECOLECCIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	
6.1 Determinación de efectividad de diferentes lavados.....	26
6.2 Identificación de pigmentos.....	27
6.3 Concentración de betacaroteno.....	27
6.4 Concentración de clorofila A.....	28
6.5 Concentración de clorofila B.....	28
7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS Y CONCLUSIÓN.....	29
8. PERSPECTIVAS.....	30
9. BIBLIOGRAFÍA.....	30
10. ANEXOS	
10.1 Medidas de seguridad.....	36
10.2 Cálculos	39
10.2.1 Betacaroteno.....	39
10.2.2 Clorofilas A y B.....	40
10.2.3 Conversiones de unidades	41

1. RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en las instalaciones del Polo Tecnológico de Pando, con dos finalidades; estudiar algunas propiedades de la palta, para poder así comprobar lo difundido sobre este fruto en redes sociales y medios de comunicación, y también determinar qué pigmentos están presentes y cuál es la concentración de éstos en palta Hass con diferentes puntos de maduración, para lo cual se seleccionaron 6 paltas en dos puntos de ventas, ubicados Pando y Barros Blancos. Mediante cromatografía en capa fina se identificaron los pigmentos presentes, siendo estos: clorofilas a, b y betacaroteno. Por medio de espectrofotometría se determinó la concentración de β -caroteno en palta verde ($45,9692 \pm 0,0069$) $\mu\text{g} / 100 \text{ g}$, palta semi-madura ($46,978 \pm 0,012$) $\mu\text{g} / 100 \text{ g}$ y palta madura ($31,723 \pm 0,023$) $\mu\text{g} / 100 \text{ g}$. Por otra parte, utilizando también el espectrofotómetro, se cuantificaron las clorofilas a y b en palta verde [($0,41 \pm 0,01$) mg / g y ($0,31 \pm 0,01$) mg / g], palta semimadura [($0,19 \pm 0,01$) mg / g y ($0,79 \pm 0,01$) mg / g] y palta madura [($0,018 \pm 0,001$) mg / g y ($1,09 \pm 0,01$) mg / g]. Mediante crecimiento microbiano se determinó la efectividad de diferentes formas de higienización en cáscara de palta Hass. Los cultivos correspondientes a las frutas tratadas solo con agua de grifo y agua de grifo más jabón presentaron crecimiento notorio de bacterias, cuya morfología correspondió a coco. El cultivo perteneciente al lavado con hipoclorito de sodio al 10 % no presentó crecimiento de microorganismos, siendo así el método más eficiente. Con los resultados obtenidos se concluyó que al aumentar la madurez de la palta descendió la concentración de clorofila a, mientras que la de clorofila b ascendió. Por otra parte, se concluyó que cuanto más madura es la palta, mayor fue la concentración de betacaroteno, y que a su vez este pigmento fue de fácil descomposición.

SUMMARY

The present research work was carried out at the facilities of the Pando Technological Pole, with 2 purposes; one of them was to study some properties of the avocado, in order to check what was disseminated about this fruit on social networks and the media. The other purpose was to determine which pigments are present and what their concentration is in Hass avocado with different ripening points, for which 6 avocados were selected in two points of sale, located in Pando and Barros Blancos. By means of thin layer chromatography the present pigments were identified, being these: chlorophylls a, b and beta-carotene. By means of spectrophotometry, the concentration of β -carotene was determined in green avocado (45.9692 ± 0.0069) $\mu\text{g} / 100 \text{ g}$, semi-ripe avocado (46.978 ± 0.012) $\mu\text{g} / 100 \text{ g}$ and ripe avocado (31.723 ± 0.023) $\mu\text{g} / 100 \text{ g}$. On the other hand, also using the spectrophotometer, chlorophylls a and b were quantified in green avocado [(0.41 ± 0.01) mg / g and (0.31 ± 0.01) mg / g], semi-ripe avocado [($0, 19 \pm 0.01$) mg / g and (0.79 ± 0.01) mg / g] and ripe avocado [(0.018 ± 0.001) mg / g and (1.09 ± 0.01) mg / g]. Through microbial growth, the effectiveness of different forms of sanitation in Hass avocado peel was determined. The cultures corresponding to the fruits treated only with tap water and tap water plus soap showed noticeable growth of bacteria, whose morphology corresponded to coconut. The culture belonging to washing with 10% sodium hypochlorite did not show growth of microorganisms, thus being the most efficient method. With the results obtained, it is concluded that as the maturity of the avocado increases, the concentration of chlorophyll a decreases, while that of chlorophyll b increases. On the other hand, it is concluded that the more mature the avocado, the higher the beta-carotene concentration, and that in turn this pigment is easily decomposed.

2. PALABRAS CLAVES: palta, aguacate, pigmentos, β - caroteno, clorofila a, clorofila b, palta Hass, avocado.

3. INTRODUCCIÓN

La palta es una fruta que en el último tiempo se ha hecho popular, debido a la difusión de sus propiedades nutricionales en redes sociales y medios de comunicación. Por este motivo se eligió estudiar algunas propiedades de la palta para poder comprobar lo difundido. Además, este trabajo de investigación se realizó con el objetivo de determinar los pigmentos presentes en palta variedad Hass con diferentes puntos de maduración, ya que la coloración de este fruto cambia de verde a morado en el transcurso de algunos días. Para estas

determinaciones se utilizaron métodos clásicos (cromatografía en capa fina) e instrumentales (espectrofotometría).

3.1 Objetivo General:

- Determinar la concentración de los pigmentos presentes en palta variedad Hass con diferente punto de madurez y estudiar la efectividad de diferentes formas de higienización de esta fruta.

3.2 Objetivos Específicos:

- Separar, reconocer y cuantificar pigmentos presentes en la palta Hass.
- Determinar el contenido de β -caroteno, clorofila a y clorofila b en diferentes puntos de madurez.
- Determinar el método más adecuado para la higienización de la cáscara de palta.
- Realizar cultivos de organismos presentes en cáscara de palta e identificar su morfología.

3.3 Pregunta Investigable:

¿Qué pigmentos están presentes y cuál es la concentración de éstos en palta Hass con diferentes puntos de madurez?

3.4 Hipótesis

- La concentración de β -caroteno será mayor que la de clorofilas en palta madura.
- La concentración de β -caroteno será menor que la de clorofilas en palta verde.
- La utilización de hipoclorito de sodio será el método más efectivo para la desinfección de la palta.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 La palta

La *persea americana*, es un árbol originario de México y Guatemala. Su fruto comestible, se conoce como aguacate, palta, cura, avocado o abacate.

El fruto es una drupa periforme de gran tamaño 300 – 400 g de piel que según variedades es entre verde y violeta e incluso negra, pudiendo ser del mismo modo lisa o rugosa. La pulpa es firme y mantecosa, encerrando en su interior una gran semilla. (Ames, 2015).



Figura N° 1: Árbol *persea americana*

Este fruto consta de una pulpa firme, aceitosa, de color amarillo a verdoso. Contiene una semilla grande (5 - 6,4 cm.), dura y pesada, redonda o con punta, de color marfil pero con dos envolturas paperosas muy delgadas de color café, que a menudo quedan adheridas a la pulpa. (Ames, como se citó en INTA, 1999).



Figura N° 2: Palta con corte transversal.

4.1.1 Exigencias Climáticas

El aguacate puede cultivarse desde el nivel del mar hasta los 2.500 metros; sin embargo, su cultivo se recomienda en altitudes entre 800 y 2.500 m, para evitar problemas con enfermedades, principalmente de las raíces. La temperatura y la precipitación son los dos factores de mayor incidencia en el desarrollo del cultivo. (Villar, como se citó en IICA, 2006)

Sequías prolongadas provocan la caída de las hojas, lo que reduce el rendimiento; el exceso de precipitación durante la floración y la fructificación, reduce la producción y provoca la caída del fruto.

El exceso de humedad relativa puede ocasionar el desarrollo de algas o líquenes sobre el tallo, ramas y hojas o enfermedades fúngicas que afectan el follaje, la floración, la polinización y el desarrollo de los frutos. Un ambiente muy seco provoca la muerte del polen con efectos negativos sobre la fecundación y con ello la formación de menor número de frutos. (Villar, como se citó en IICA, 2006)

4.1.2 Historia de la palta

Antes de la llegada de los europeos la palta se cultivaba desde el río Bravo, en el norte de México, hasta Guatemala.

La palta o persea americana se originó en el centro sur de México, en algún momento entre el año 7.000 y 5.000 antes de Cristo. Su uso fue y es parte importante de la dieta de la población de estas zonas.

Después del descubrimiento de América y de su conquista por parte de los españoles, el aguacate se diseminó a otros lugares del mundo, llegando a Europa y al resto del mundo. (Helyn, s/f)

Actualmente se encuentran grandes plantaciones en cinco continentes, siendo los mayores productores: México, Estados Unidos, (California y Florida), Santo Domingo, Brasil, Indonesia, Sudáfrica Israel y España (Costa Mediterránea y Canarias) (Ames, como se citó en Alza y Vázquez, 2002).

4.1.3 Variedades de palta

Los tipos de paltas más comunes que se pueden encontrar son: palta Fuerte, Bacon, Hass, Mexicola, Edranol, Zutano.

A continuación se exponen características y breve historia de la palta Hass, variedad a utilizar en esta investigación:

Palta Hass:

Tiene una piel negra y rugosa con colores que varían de verde a púrpura al estar maduro; tiene una pepa pequeña en su interior; ésta es una palta de tamaño mediano que masa entre los 150 y 350 gramos, es fácil de pelar y tiene un sabor exquisito, gracias a esto es una de las paltas más requeridas por el sector gastronómico.

Su origen se remonta al año 1926 donde el señor Sr. R. G. Hass la originó a partir de una semilla de palto de raza guatemalteca en su rancho en California. Esta variedad de palta es la más cultivada a nivel mundial. (Agroempresario, 2020)



Figura N° 3: Variedades de Palta.

4.1.4 Propiedades nutricionales

Las grasas constituyen el principal componente tras el agua, por lo que su valor calórico es elevado. Aporta una baja cantidad de glúcidos y menor aún de proteínas. En cuanto a la grasa que contiene, ésta es mayoritariamente monoinsaturada; el 72 % del total de grasas es ácido oleico, característico del aceite de oliva. Es rico en minerales como el potasio y el magnesio, y pobre en sodio. Destaca su contenido de provitamina A, vitamina E y ciertas vitaminas hidrosolubles del grupo B, como la B₆ o Piridoxina importante para el funcionamiento del sistema nervioso. (Zudaire, 2001)

Su valor calórico es elevado con respecto a otras frutas. El Comité de Paltas señala que 100 gramos de pulpa aporta 160 calorías. La palta, además de ser un alimento completo, también es considerada como un alimento funcional, es decir, que va más allá de sus ingredientes nutricionales básicos y presenta propiedades específicas benéficas para la salud. Investigaciones realizadas por la Universidad de California, en Los Ángeles, señalaron que este fruto contiene micronutrientes que ayudan a combatir enfermedades cardíacas y algunos tipos de cáncer. (Villar, como se citó en Juri, 2010)

4.1.5 Composición química y bioquímica de la palta

La composición de este fruto en el momento de la recolección es muy variable, dependiendo de la variedad de paltos, del suelo, del clima, y del cultivo. Por término medio, los paltos de la variedad fuerte llevan en su composición: aceite: 15-22 %; agua: 76 – 82 %; hueso y tejidos vegetales: 18 – 24 %. (Ames, como se citó en Morton, 1987).

En la siguiente tabla, se expone la composición bioquímica de la palta:

Componentes	Cantidades
Agua	75,0 g
Fibra	1,6 g
Proteínas	1,7 g
Hidratos de carbono	5,9 g
Grasas	15,4 g
Aceites saturados	2,2 g
Aceites monoinsaturados	8,9 g (96% ácido oleico)
Aceites poliinsaturados	1,7 g (98% ácido linoleico)
Vitamina A	85,0 ug
Vitamina D	10,0 ug
Vitamina E	3,0 mg
Vitamina C	14,0 mg
Vitamina K	8,0 ug
Vitamina B1	0,11 mg
Vitamina B2	0,20 mg
Vitamina B6	0,45 mg
Niacina	1,6 mg
Ácido pantoténico	1,0 mg
Biotina	10,0 ug
Ácido fólico	32,0 ug
Calcio	10,0 mg
Hierro	1,06 mg
Fósforo	40,0 mg
Sodio	4,0 mg
Potasio	463,0 mg
Magnesio	41,0 mg
Manganeso	2,3 mg
Cobre	0,35 mg
Azufre	25,0 mg
Cloro	10,0 mg
Energía	160,0 Kcal

Tabla N° 1: Composición bioquímica de la palta

4.2 Pigmentos carotenoides

Los pigmentos carotenoides, en particular la astaxantina, son antioxidantes naturales que estimulan la respuesta inmunológica, disminuyen los efectos adversos del estrés y favorecen el crecimiento de los organismos acuáticos durante su cultivo. Además, se ha documentado el efecto benéfico de los carotenoides en la salud humana, sobre todo contra algunas enfermedades degenerativas.

Los carotenoides son pigmentos orgánicos solubles en grasa que se encuentran de forma natural en algas, plantas y algunas clases de hongos y bacterias. Debido a sus características fisicoquímicas, los

carotenoides son responsables de la gran mayoría de los colores verdes, anaranjados o rojos presentes en algunos vegetales y también animales. Se dividen en dos grandes grupos: los carotenos y las xantofilas. Los primeros contienen carbono e hidrógeno en sus moléculas. Los pigmentos β -caroteno, α -caroteno, licopeno y criptoxantina se encuentran principalmente en micro y macroalgas, así como en vegetales terrestres: zanahorias, papayas, melones y naranjas, entre otros. En contraste, las xantofilas están compuestas por carbono, hidrógeno y, adicionalmente, por lo menos un átomo de oxígeno. Algunos ejemplos son la luteína, zeaxantina, capsantina y astaxantina, pigmentos que le dan la coloración amarillenta, roja y anaranjada a las algas, bacterias y plantas superiores, como el pimiento rojo y el arándano, entre otros (Quintana, 2018).

Los pigmentos carotenoides son indispensables para la vida y deben obtenerse a partir de la dieta, ya que ningún animal, incluido el humano, puede producirlos. Actualmente se conocen alrededor de 700 carotenoides, de los cuales 200 son de origen marino.

4.2.1 Beta-caroteno (β -caroteno)

El betacaroteno es un miembro de la familia de los carotenoides.

De los carotenoides que se dan de forma natural y pueden ser convertidos en vitamina A por el organismo, los llamados 'carotenoides provitamina A', el betacaroteno es el más abundante y el más eficiente que se halla en los alimentos.

En las hortalizas de hoja, el betacaroteno es el carotenoide predominante. Las frutas y hortalizas anaranjadas como las zanahorias, los mangos o la calabaza, tienen concentraciones elevadas de betacaroteno.

Este pigmento tiene propiedades antioxidantes que pueden ayudar a neutralizar los radicales libres, moléculas reactivas del oxígeno que pueden dañar los lípidos de las membranas celulares y el material genético, lo cual puede conducir al desarrollo de enfermedades cardiovasculares y cáncer. (Nutrifacts, s/f).

El betacaroteno y otros carotenoides pueden facilitar la comunicación entre células colindantes al estimular la síntesis de proteínas que forman poros en las membranas celulares y permiten así la comunicación mediante el intercambio de pequeñas moléculas. (Nutrifacts, como se citó en Bertram JS, 1999).

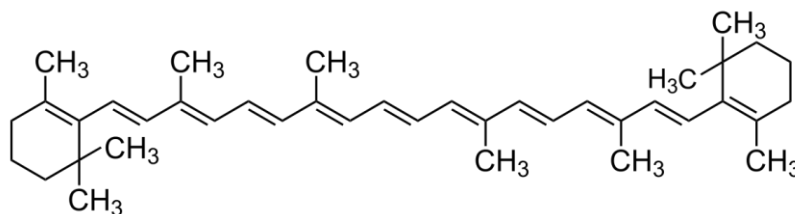


Figura N° 4: Estructura del β -caroteno.

4.2.2 Clorofilas

Las clorofilas son una familia de pigmentos de color verde que se encuentran en las cianobacterias y en todos aquellos organismos que contienen cloroplastos en sus células (plantas y protistas), es crítica en la fotosíntesis, proceso que permite a los organismos absorber energía a partir de la luz solar y transformarla en compuestos orgánicos y dióxígeno.

Este pigmento consta de un anillo de porfirina que contiene magnesio y cuya función es absorber la luz. Además tiene una cadena hidrófoba de fitol cuya función es mantener la clorofila integrada en la membrana fotosintética

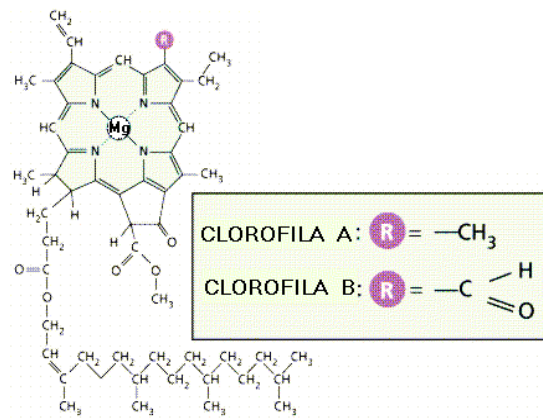


Figura N° 5: Estructura de la clorofila.

Ubicación

La clorofila se encuentra en los cloroplastos de las unidades celulares vegetales de las plantas. Dichas unidades, frecuentemente se localizan en el citoplasma, próximo a la pared nuclear. De igual modo, la clorofila posee un tono verde debido a que tiene la habilidad de aspirar luz roja, azulada, y reflejar luz verde, sin embargo, durante la estación de otoño, la clorofila se desintegra y, por esto es que se ve en las hojas de los árboles un tono marrón. A la clorofila se le localiza de forma fácil debido a su conducta ante la luz.

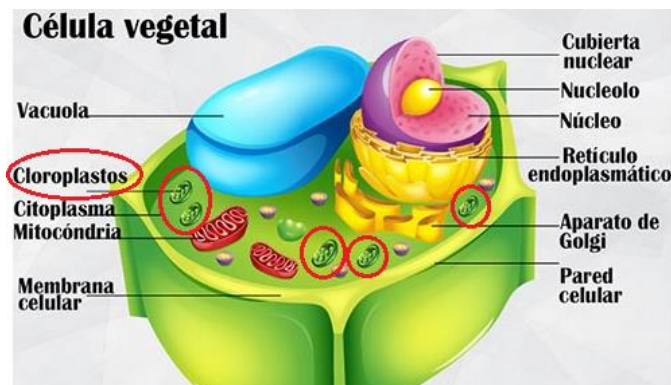


Figura N° 6: Estructura de una célula vegetal y ubicación de los cloroplastos.

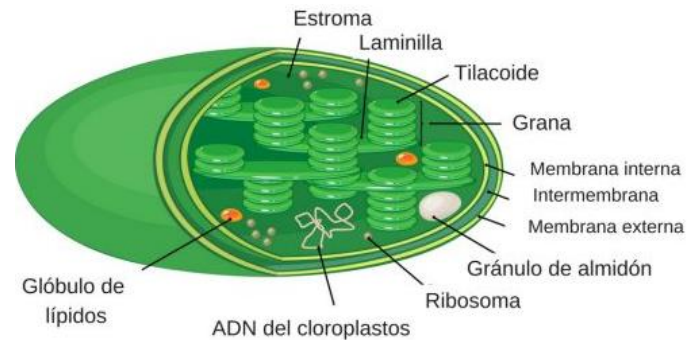
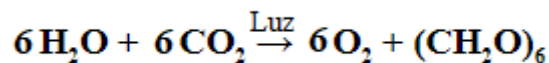


Figura N° 7: Estructura de un cloroplasto.

Función:

La clorofila se encarga de la absorción de la energía proveniente de la luz solar para la producción de energía química en la fotosíntesis.

La ecuación química de dicha reacción es la siguiente:



Clorofila A

Este tipo de clorofila se ubica en todos los organismos que realizan la fotosíntesis. El motivo de por qué es fundamental se debe a su habilidad de absorber longitudes de onda de luz que están en el espectro de la luz de tipo solar. Cuando se absorbe la clorofila A, la luz del sol se compone con dióxido de carbono y agua para generar moléculas de glucosa y energía empleadas para fortalecer la articulación de las células de las algas. Esta clorofila consiste en una coloración de tono verde, el que le da a los árboles y algas. (Curetti, s/f).

Clorofila B

La clorofila B es una coloración verde en las algas y árboles del mismo color. Esta incrementa la habilidad de la clorofila A para absorber la luz del sol.

Absorción de las clorofilas

Las clorofilas tienen típicamente dos grupos de absorción en el espectro visible:

- En la zona de la luz azul (400 - 500 nm).
- En la zona roja del espectro (600 - 700 nm).

Las clorofilas reflejan la parte media de color verde (500 - 600 nm).

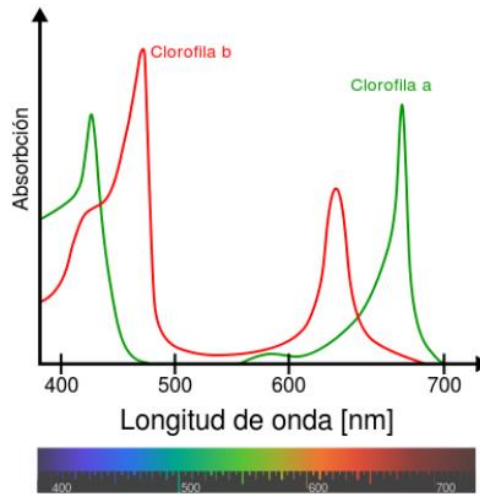


Figura N° 8: Absorción de las clorofilas a y b

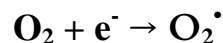
4.3 Propiedades antioxidantes de los carotenoides

Actualmente se habla de alimentos funcionales, es decir, aquellos que tienen grupos de compuestos que ejercen un efecto directo en la salud debido a que actúan directamente en la prevención o reducción de alguna enfermedad. Dentro de este nuevo esquema, se ha identificado un grupo químico que tiene la principal característica de actuar como antioxidantes.

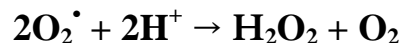
Éstos se han clasificado en dos sistemas: el enzimático (endógeno) y el no enzimático (exógeno).

El primero se basa en una defensa que incluye a la superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, tiorredoxina reductasa y al glutatión reductasa. La superóxido dismutasa permite la disminución del ion superóxido en peróxido de hidrógeno y cuya acumulación se evita por el sistema de catalasa/glutatión peroxidasa, transformándolo en oxígeno no molecular, agua y glutatión oxidado. Cuando este sistema se sobrepasa, se presenta una sobreproducción de iones superóxido (O_2^-) y de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), dando lugar al radical oxhidrilo (OH) que es una molécula altamente reactiva alterando la estructura de proteínas, ácidos nucleicos y lípidos. (Jáuregui, 2011).

Reacción de producción de superóxido:



Reacción de acción de la superóxido dismutasa:



Reacción de acción de la catalasa:



El segundo sistema es paralelo al primero y muy útil cuando éste se satura.

Está formado por compuestos llamados depuradores de radicales libres; sin embargo, cuando se involucran a moléculas en las que el oxígeno o nitrógeno son el elemento reactivo de su estructura, se les denomina especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ERON) (O_2^- , HO, NO), incluyendo en éstas a moléculas precursoras de los radicales libres (H_2O_2 , HONO). Dentro de los depuradores de estas ERON más conocidos están los tocoferoles, ácido ascórbico, flavonoides (quercitina, luteolina, catequinas), antocianinas, ácidos fenólicos y carotenoides. (Jáuregui, 2011).

Esta investigación tiene como finalidad el estudio de carotenoides, es por este motivo que se profundizará la búsqueda bibliográfica de éstos compuestos.

Las funciones y acciones de los carotenoides están determinadas por las propiedades físicas y químicas de las moléculas. Primero, la geometría integral molecular (tamaño, tipo, presencia de grupos funcionales) es vital para asegurar que el carotenoide es afín con las estructuras celulares y subcelulares en la localización y orientación correcta que permite una eficiente función. Segundo, el sistema de dobles enlaces conjugados determina las propiedades fitoquímicas y reactividad química que forma la base de estas funciones. Además, las interacciones específicas con otras moléculas en la vecindad inmediata son cruciales para el funcionamiento correcto.

Los carotenos son transportados en el organismo por el plasma, por lo que se ha considerado que algunos de ellos (α - o β -caroteno) podrían servir como biomarcadores para determinar la ingesta de vegetales y frutas y clarificar la relación dieta-enfermedad. Es el α -caroteno quien ha mostrado tener la mayor correlación con la ingesta.

El mecanismo de acción de los carotenoides en la salud humana no se ha definido claramente. Una posible hipótesis es que los carotenoides, incluyendo pero no limitándose al β -caroteno, sirven como un supresor superóxido O_2^- (forma altamente reactiva) y como antioxidante en la prevención del daño de las ERON (especies reactivas de oxígeno y nitrógeno) a compuestos celulares críticos. Los carotenoides no actúan solos en este proceso ya que existe otro grupo de componentes dietarios y endógenos que también funcionan como antioxidantes. Debido a que los mecanismos que implican los efectos en la salud humana de estos agentes o sus combinaciones no están bien definidos, la presunción de que están actuando solamente como antioxidantes en vivo limita, más que expandir, el horizonte conceptual. Un mejor término para cualquier efecto benéfico o adverso, que se puede establecer a partir de los estudios epidemiológicos es como “modulador fisiológico”. (Jáuregui, 2011).

Los carotenoides tienen la capacidad de inactivar algunas especies de moléculas en estado de excitación electrónica principalmente debido a reacciones fotosensibles. La luz puede convertir moléculas a una forma electrónicamente excitada de vida corta, pero que pueden interactuar con otras de su misma especie para formar una molécula estable. Esta última es la que puede reaccionar con una gran variedad de moléculas para iniciar las reacciones fotoquímicas.

En algunas circunstancias se pueden iniciar dos tipos de reacciones:

- 1) Reaccionar con varias moléculas y generar ERON que pueden dar lugar a reacciones diversas y dañar a las células.
- 2) Reaccionar directamente con el oxígeno y formar una molécula de oxígeno singulete. Esta molécula es extremadamente reactiva capaz de iniciar la peroxidación de lípidos al reaccionar con ácidos grasos saturados, de inactivar proteínas y enzimas al reaccionar con aminoácidos como metionina, histidina, triptófano y tirosina o bien de oxidar residuos de guanina en el ADN o ARN.

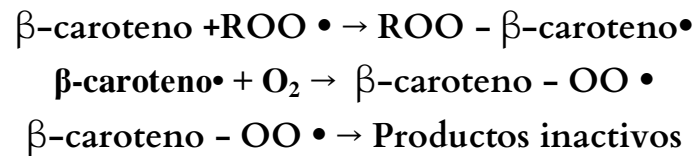
Se ha demostrado que los carotenoides son muy efectivos para la inactivación de (O_2); de esta manera los éstos pueden atrapar catalíticamente el (O_2) y evitar el daño fotooxidativo iniciado por esta molécula reactiva.

4.3.1 Acción del β -caroteno

El papel del β -caroteno en enfermedades coronarias ha sido objeto de una serie de estudios que proporcionan datos que en ocasiones son contradictorios por lo que se ha propuesto que dicha prevención se debe más al consumo de alimentos ricos en β -caroteno que al pigmento en particular.

Otros estudios han reportado que su relación es más eficiente en la protección del riesgo de cáncer en la piel como consecuencia de la radiación UV. Ya que el β -caroteno inhibe a las ERON y al oxígeno singlete producido por la peroxidación lipídica en los liposomas y en los sistemas biológicos, actuando como agente fotoprotector que bloquea las reacciones fotoquímicas en la epidermis las cuales involucran al oxígeno singlete y a radicales de oxígeno generados por la exposición UV.

Algunos investigadores proponen que la acción del β -caroteno frente al radical peroxilo generaría otro radical con el carbono central estabilizado por resonancia. (Burton, s/f)



Sin embargo, los carotenoides pueden perder su acción antioxidante a concentraciones altas o a una presión parcialmente alta de dióxígeno (O_2) en los sistemas biológicos, por lo que han mostrado una tendencia a actuar como prooxidantes.

Otras investigaciones mencionan que la actividad antioxidante de los carotenoides puede cambiar a actividad prooxidante, dependiendo del potencial redox de las moléculas de los carotenoides así como del medio ambiente en el que actúan. El potencial prooxidante de estos compuestos está determinado por varios factores, incluyendo oxígeno, concentración de carotenoides y sus interacciones con otros antioxidantes. (Jáuregui, 2011).

4.4 Higienización de frutas

El objetivo principal de esta fase es eliminar microorganismos patógenos como *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y huevos de parásitos en la fruta. La fase de desinfección puede ser realizada por ducha o aspersion y por inmersión dentro de una solución (el borbotello por inyección de aire mejora su eficacia).

- En la aspersion, los factores clave son la longitud del recorrido y la velocidad de la cinta transportadora, puesto que ambos determinan el tiempo de residencia del producto en el sistema y, por tanto, la eficacia del desinfectante.
- En la inmersión, es preciso definir correctamente la velocidad de circulación del agua y el tiempo de residencia del producto en la cubeta, puesto que ambos determinan el objetivo de calidad e higiene perseguido.

El desinfectante más utilizado es el hipoclorito sódico (NaClO) y una concentración de 100 ppm en la solución desinfectante puede reducir hasta 100 veces la carga microbiana total del producto.

Otros desinfectantes químicos, que pueden utilizar son: ozono (O_3), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), agua electrolizada, ácido peroxiacético (PAA), ácidos orgánicos (láctico, cítrico, acético), aceites esenciales de plantas (romero, tomillo, eucalipto) –todavía en fase de investigación–, pero siempre será necesario demostrar la eficacia desinfectante de cada producto (validación). (García y Vázquez, 2015).

4.5 Microorganismos presentes en la palta

Un informe de la Administración de Alimentos de los Estados Unidos (FDA) reveló que las cáscaras de palta pueden contener bacterias, como la listeria y la salmonela.

El informe proviene de una evaluación de paltas que se realizó por 2 años para determinar la prevalencia de bacterias en el producto. La FDA recolectó 1,615 muestras de paltas, el 70 por ciento de las cuales se importaron para reflejar el mercado respectivo de los Estados Unidos en ese momento. La muestra completa se analizó para detectar salmonella en la piel y se encontró que menos del 1 % contenía la bacteria.

Después de probar 361 aguacates de la muestra, la FDA encontró que el 17 % contenía listeria en la piel. (Carmín, 2018)

4.5.1 *Salmonella*

Salmonella pertenece a un grupo de bacterias que están presentes en el intestino de personas y animales sanos, de forma que las heces son el principal foco de contaminación a los alimentos y al agua. Cuando llega a los alimentos frescos, tiene la habilidad de multiplicarse muy rápidamente, y cuando una persona ingiere dicho alimento contaminando, el gran número de bacterias provoca “salmonelosis”, infección gastrointestinal provocada por dicha bacteria. (Elika, 2013).

Pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* constituido por bacilos gramnegativo intracelulares anaerobios facultativos con flagelos peritricos.

Crece con facilidad en agar sangre formando colonias de 2 a 3 mm. Al igual que otras bacterias Gram negativas (es decir, que no se tiñen de azul oscuro o de violeta por la tinción de Gram), *Salmonella* usa un sistema secretor especializado (denominado tipo III) para inyectar dentro de células eucariotas ciertas proteínas efectoras que manipulan las vías de señalización celular y de la bacteria. Se ha observado la entrega de la proteína SipA a células que debilitan la maquinaria intracelular del huésped y promueven la virulencia en mamíferos en aproximadamente diez minutos, para dejar a la bacteria virtualmente desprovista de SipA, efectivamente establecer un nicho para su multiplicación intracelular.

Las bacterias *Salmonella spp.* viven en el tracto intestinal de animales sanos, principalmente, aves de corral, ganado vacuno y porcino, y animales domésticos (tortugas, perros, gatos, roedores) sin provocar problemas para su salud. En el medio ambiente (heces), esta bacteria sobrevive durante mucho tiempo debido a su gran resistencia a la baja actividad de agua. Asimismo, puede permanecer viable en productos ricos en proteínas y grasas.

Cuando las bacterias *Salmonella* pasan de los animales hospedadores a los alimentos derivados (carne, huevos, leche) es capaz de multiplicarse a una velocidad muy elevada, ya que puede duplicar su número cada 15 ó 20 minutos si la temperatura es elevada (superior a 20 °C), y más significativamente, si la temperatura ambiente supera los 30 °C, ya que su temperatura óptima de crecimiento es de 30 - 37 °C. Si los alimentos no se refrigeran rápidamente (el límite de crecimiento está en 6 °C) el microorganismo se multiplica, con el consiguiente riesgo de contaminar los alimentos. Por tanto, temperatura y tiempo son dos factores claves en el desarrollo de la *Salmonella*. (Elika, 2013).

	Minimo	Optimo	Máximo
Temperatura	5,2	35-43	46,2
pH	3,8	7-7,5	9,5
Actividad del agua	0,93	0,99	>0,99

Tabla N° 2: Condiciones de crecimiento de la *Salmonella*

La *Salmonella* puede llegar a los alimentos por varias vías:

- 1) En origen: en las explotaciones avícolas y ganaderas por una inadecuada manipulación de los alimentos derivados de los animales. La presencia de *Salmonella spp.* en los alimentos de origen animal es debida, mayoritariamente, a la contaminación de origen fecal durante los procesos de obtención, aparte de la contaminación endógena de los huevos.
- 2) En proceso por falta de higiene e inadecuada manipulación de los alimentos:
 - Contaminación cruzada en los mataderos, en las fases posteriores de transformación de los alimentos, y en la preparación y cocción de los alimentos en el hogar.
 - Personas: Los manipuladores de alimentos pueden ser portadoras de *Salmonella*, de forma que al manipular los alimentos, sin tener en cuenta unas buenas prácticas de higiene, contaminan los alimentos.
 - Agua: El agua de riego puede estar contaminada con *Salmonella*, transmitiéndose a las frutas y verduras frescas regadas con dicho agua.

Debido a que la *Salmonella* es un microorganismo sensible a los tratamientos térmicos, se asocia con el consumo de alimentos crudos o poco cocinados.

También, la carne de ave, de cerdo y de vacuno insuficientemente cocinada y carnes fermentadas, leche no pasteurizada y productos derivados pueden estar contaminadas con *Salmonella*. Las frutas y verduras regadas con agua contaminada, también pueden ser transmisoras de la bacteria. Asimismo, el pescado y los moluscos pueden estar infectados si el agua en el que se encuentran está contaminada con *Salmonella*.



Figura N° 9: *Salmonella*

Salmonellosis:

Por lo general, esta enfermedad suele producir diarrea, dolor abdominal y fiebre, aunque también puede venir acompañada de dolor de cabeza, náuseas y vómitos.

La mayoría de los casos ocurren durante los meses del verano y en ocasiones pueden presentarse brotes, especialmente en escuelas, guarderías, restaurantes y residencias de ancianos. El período de incubación es por lo general de 8 a 72 horas.

La deshidratación ligada a los síntomas gastrointestinales hace que la Salmonellosis sea de especial importancia en personas con el sistema inmunitario débil (bebés y niños menores de 5, personas mayores de 60 años, y enfermos de cáncer, diabéticos, portadores del VIH, pacientes tratados con corticosteroides y otros grupos de riesgo) donde puede desencadenar problemas muy graves. (Elika, 2013).

4.5.2 *Listeria*

Las bacterias pertenecientes al género *Listeria* son bacilos gram-positivos cortos, regulares, no esporulados ni ramificados, que suelen observarse en disposición individual o formando cadenas cortas. En cultivos viejos pueden aparecer formando filamentos de 6 - 20 mm de longitud. Presentan de 1 a 5 flagelos peritricos que les confieren movilidad a 28 °C. (Oteo y Alós, s/f)

Las colonias son pequeñas (de 1 a 2 mm tras uno o dos días de incubación) y lisas. Al observarse a la lupa con epiiluminación, con un ángulo de la luz de 45°-60°, se observan reflejos de color azul-verdoso

sobre una superficie finamente granular. Su temperatura óptima de crecimiento está entre 30 °C y 37 °C, pero pueden crecer a 4 °C en pocos días.

Listeria spp. son anaerobias facultativas, catalasa positivas y oxidasa negativas. Las reacciones de Voges-Proskauer y rojo de metilo son positivas. Hidrolizan la esculina en pocas horas, pero no la urea ni la gelatina. Producen ácido de la D-glucosa y de otros azúcares. El contenido de guanina-citosina de su ADN es bajo, entre el 36 % y el 38 %.

Entre las diferentes especies incluidas en el género, *Listeria monocytogenes* es la única implicada en patología humana.

Las especies de *Listeria* están muy extendidas en el medio ambiente. Se han aislado del suelo, materia vegetal en putrefacción, aguas residuales, comida animal, pollo fresco y congelado, alimentos frescos y procesados, queso, leche no procesada, desechos de los mataderos, así como en el tracto digestivo de humanos y animales asintomáticos. *L. monocytogenes* se ha aislado de variadas especies de mamíferos, aves, peces, crustáceos e insectos. No obstante su principal hábitat es el suelo y la materia vegetal en descomposición, en la cual sobrevive y crece como saprófito. Debido a su amplia distribución, este microorganismo tiene muchas oportunidades de contaminar alimentos en distintos pasos de la producción alimentaria, siendo ésta la vía más frecuente por la que el ser humano adquiere la infección. La listeriosis puede presentarse esporádicamente o en epidemias; en ambas situaciones, los alimentos contaminados son los principales vehículos de transmisión de *L. monocytogenes*. La leche, el queso, los vegetales frescos, la berza, el pollo, las setas, el pavo y muchos otros suelen ser los alimentos más frecuentemente implicados en ella. La incidencia anual por 100.000 habitantes puede variar del 0,3 al 0,8 % y alcanzar un 5 % durante algunos brotes epidémicos. (Oteo y Alós, s/f)

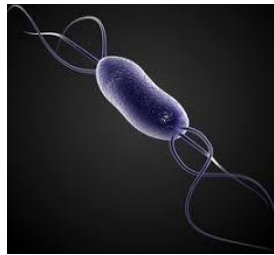


Figura N° 10: *L. monocytogenes*

4.5.3 Bacterias

Las bacterias son microorganismos unicelulares que se reproducen por fisión binaria. La mayoría son de vida libre, a excepción de algunas que son de vida intracelular obligada. Las bacterias integran el reino procariota (“pro” de primitivo y “cariota” de núcleo). Como característica principal, los procariotas no poseen compartimentos intracelulares delimitados por membranas, por lo que carecen de membrana nuclear, a diferencia de los eucariotas. También es importante destacar que el ADN procariota es circular y cerrado, mientras que el eucariota se organiza en cromosomas individuales y se asocia a proteínas de tipo histonas. Las bacterias poseen una pared celular compuesta por peptidoglicano. (Pirez, s/f)

Morfología bacteriana

La forma de las bacterias al microscopio está determinada por la rigidez de su pared celular. Básicamente, se diferencian según su forma en cocos (esféricas u ovaladas), bacilos (cilíndrica o de bastones; rectos o curvos) y espirilos (espiral). La morfología bacteriana debe ser observada con el microscopio óptico o el microscopio electrónico, dado el tamaño pequeño de estos microorganismos. El más usado en el laboratorio es el microscopio óptico de campo claro, pero existen otros como el microscopio óptico de campo oscuro en los que los organismos aparecen brillantes en fondo oscuro. Este microscopio permite la visualización de bacterias difíciles de colorear. (Pirez, s/f)

Observación

Las bacterias pueden observarse sin tinción (examen en fresco) si se las coloca en glicerol o soluciones no acuosas que aumenten el índice de refracción o con tinción usando distintas coloraciones que mejoran su visualización ya que son células incoloras. Dichas tinciones se basan en la afinidad que presentan los colorantes por las estructuras bacterianas. Los colorantes catiónicos por ejemplo, son atraídos por los componentes de carga negativa como los ácidos nucleicos y los polisacáridos. Ejemplo de este tipo son: el azul de metileno, el cristal violeta y la safranina. (Pirez M. s/f)

Colonias bacterianas

La mayoría de las bacterias se multiplican rápidamente y son visibles como colonias cuando se las siembra en medios de cultivo sólidos adecuados. Requieren una incubación de aproximadamente 24 horas en una atmósfera que favorezca su desarrollo, a temperatura óptima.

Una colonia está constituida por los descendientes de una o unas pocas células. Las características de la colonia también dependen de la movilidad de la bacteria. El tamaño puede variar desde 0,5 mm a más grandes como las enterobacterias. La forma de la colonia puede ser circular, irregular o filamentosa. Los bordes pueden ser ondulados (característicos de los bacilos largos), en sierra, dentados o lisos. La superficie de la colonia también es orientadora y puede ser: plana, convexa, mamelonada, umbilicada. (Pirez, s/f)

4.6 Medios de cultivo microbiano

Un medio de cultivo es un sustrato o solución de nutrientes en los que crece y se multiplican los microorganismos en el laboratorio, con el objeto de aislar diferentes especies bacterianas, con el fin de identificarlas y realizar estudios complementarios.

4.6.1 Clasificación de medios de cultivo

Pueden clasificarse según su: consistencia, origen, composición y utilización.

Consistencia

- Líquidos: contienen nutrientes a los cuales se les adicionan sustancias con la capacidad de mantener estables un pH, entre ellos se pueden encontrar el caldo nutritivo y caldo peptona.
- Sólidos: se obtienen agregando agar (sustancia de tipo polisacárido que se obtiene de algas marinas) a un medio líquido determinado. Al tener un medio sólido, se facilita la obtención de colonias bacterianas aisladas.
- Semisólidos: similares a los medios sólidos, la única diferencia es que a estos se les disminuye la cantidad de agar, lo que permite conservar cepas bacterianas y la observación y registro de bacterias móviles.

Origen

Según su origen los medios de cultivo se dividen en medios sintéticos y medios naturales.

- Los medios sintéticos o químicamente definidos son medios compuestos por productos químicos conocidos y se utilizan para realizar estudios metabólicos, por ejemplo: agar blando, caldo nutritivo, agar eosina azul de metileno, etc.
- Los medios naturales o químicamente no definidos son aquellos medios que se preparan a partir de sustancias naturales animales o vegetales, por ejemplo: suero, leche, papa, etc.

Composición y utilización

Según su utilización y su composición los medios de cultivo se pueden clasificar en: simples, enriquecidos, selectivos, diferenciales, enriquecimiento.

- **Simples:** Poseen los requisitos nutricionales para permitir el desarrollo bacteriano general, ejemplos: agar nutritivo, caldo nutritivo, entre otros.
- **Enriquecidos:** Son medios simples o comunes, a los que se le añaden ciertos elementos como sangre, suero, líquido ascítico, huevo, glucosa, vitaminas, etc. lo que permite el aporte de factores de crecimiento o sustancias que neutralizan agentes inhibidores del crecimiento en bacterias exigentes nutricionalmente, entre algunos ejemplos: agar sangre, medio de Löwenstein-Jensen, enriquecido con huevo para facilitar el crecimiento de *Mycobacterium*; agar desoxicolato-lactosa (DLA), enriquecido con lactosa y desoxicolato.
- **Medios selectivos:** Se consiguen añadiendo al agar nutritivo compuestos químicos nocivos para algunas bacterias cuyo crecimiento no es de interés o también mediante una alteración de las condiciones físicas del medio, algunos ejemplos son los siguientes:
 - El agar Mac Conkey que contiene cristal violeta.
 - Thayer-Martin medio selectivo para Neisser, ya que este posee antibióticos como la vancomicina colistina y nistatina.
 - Caldo lactosado bilis verde brillante en donde la bilis inhibe el crecimiento de bacterias gram positivas.
 - Löwenstein-Jensen con verde de malaquita es selectivo para *Mycobacterium*.
- **Medios diferenciales:** A estos medios se le adicionan sustancias para que sólo crezcan ciertas bacterias y estas, al actuar sobre alguna de las sustancias adicionadas, permiten observar macroscópicamente ciertas propiedades de crecimiento que ayudan a diferenciar sus colonias de otras especies diferentes, algunos ejemplos son los siguientes:
 - Agar eosina azul de metileno (EMB), diferencia *E. coli* (color verde metálico brillante) de colonias de *Enterobacter aerogenes* (color rosado, consistencia mucosa y crecimiento abundante).
 - Agar sangre, diferencia variedades de *Streptococcus pyogenes* en *Streptococcus beta* hemolíticos de *Streptococcus alfa* hemolítico y *gama* hemolítica.
 - Agar Salmonella-Shigella tiene lactosa y un indicador de pH que permite diferenciar las colonias de bacterias fermentadoras de este disacárido.
- **Medios de enriquecimiento:** Son medios líquidos que favorecen o permiten la multiplicación de las bacterias cuando la muestra obtenida es muy pobre, por ejemplo:
 - Caldo tioglicolato, favorece el crecimiento de las bacterias anaeróbicas.
 - Caldo tetrionato, favorece el crecimiento de bacterias microaerófilas.
 - Los caldos bilis y de Muller-Kauffman, favorecen el crecimiento del género *Salmonella*.
 - Caldo o agua peptonada se utiliza para el crecimiento de *Vibrio Cholerae*. (EduLabC, 2019)

A continuación, se dará una breve descripción de equipamiento y técnicas utilizadas durante el desarrollo práctico de la presente investigación:

4.7 Autoclave

Un autoclave es un recipiente metálico de paredes gruesas con cierre hermético que permite trabajar con vapor de agua a alta presión y alta temperatura que sirve para esterilizar instrumental (material médico, de laboratorio, etc.) o alimentos.

La autoclave inactiva todos los virus y bacterias, aunque se ha llegado a saber que algunos microorganismos pueden soportar las temperaturas de la autoclave. Las autoclaves se utilizan en aplicaciones principalmente de esterilización y en la industria química.

Muchas autoclaves se usan para esterilizar equipos y suministros sometiéndose a vapor de agua saturado a alta presión a 121 °C durante alrededor de 15 a 20 minutos dependiendo del tamaño de la carga y el contenido.

La esterilización con vapor de agua es el método más efectivo, ya que actúa coagulando las proteínas de los microorganismos llevando así a su destrucción. (Laboratorio Químico, s/f)

4.7.1 Parámetros que hay que controlar en un Autoclave

Presión de vapor: El vapor será saturado y libre de impurezas utilizando agua tratada. La pureza del vapor, la saturación y la disponibilidad del vapor son importantes variables del proceso. De la calidad del vapor depende que la esterilización sea efectiva o no. Estas impurezas pueden oxidar el instrumental.

Tiempo: Tiempo de exposición del producto o de la cámara a la temperatura de esterilización. Es la duración de la fase de esterilización.

Temperatura: Temperatura a la que se mantiene la cámara durante la fase de esterilización. (Laboratorio Químico, s/f)



Figura N° 11: Autoclave

4.8 Cromatografía en capa fina

La cromatografía en capa fina (CCF) es una técnica cromatográfica que utiliza una placa inmersa verticalmente en una fase móvil (eluyente). Esta placa cromatográfica consiste en una fase estacionaria polar (comúnmente se utiliza sílica gel) adherida a una superficie sólida. La fase estacionaria es una capa uniforme de un absorbente mantenido sobre una placa, la cual puede ser de vidrio, aluminio u otro soporte.

4.8.1 Desarrollo de la cromatografía en capa fina

El desarrollo de los cromatogramas en capa fina se realiza normalmente por el método ascendente, esto es, al permitir que un eluyente ascienda por una placa casi en vertical, en una cubeta, por la acción de la capilaridad. Para conseguir la máxima saturación posible de la atmósfera de la cámara.

Generalmente el eluyente se introduce en la cámara una hora antes del desarrollo y se impregnan las paredes para permitir la saturación de la atmósfera. El tiempo de desarrollo, por lo general, no llega a los 30 minutos. El tiempo de una cromatografía cualitativa suele ser de un par de minutos, mientras que el tiempo de una cromatografía preparativa puede llegar a un par de horas.

Adsorbentes y eluyentes

Los dos adsorbentes (fase estacionaria) más ampliamente utilizados son la gel de sílice (SiO_2) y la alúmina (Al_2O_3), ambas de carácter polar. La alúmina anhidra es el más activo de los dos, es decir, es el que retiene con más fuerza a los compuestos; por ello se utiliza para separar compuestos relativamente apolares (hidrocarburos, haluros de alquilo, éteres, aldehídos y cetonas). El gel de sílice, por el contrario, se utiliza para separar sustancias más polares (alcoholes, aminas, ácidos carboxílicos). El proceso de adsorción se debe a interacciones intermoleculares de tipo dipolo-dipolo o enlaces de hidrógeno entre el soluto y el adsorbente. (QFA, s/f).

Las placas pueden desarrollarse durante un tiempo prefijado, o hasta que se alcance una línea dibujada a una distancia fija desde el origen. Esto se hace para estandarizar los valores de R_F . Frecuentemente esta distancia es de 10 cm, ya que parece ser la más conveniente para medir valores de R_F . Después del desarrollo, las placas pueden secarse rápidamente con una corriente de aire caliente.

La mejor posición de desarrollo para un componente es el punto medio entre el origen y el frente del eluyente, ya que permite separar las impurezas que se desplazan con mayor y menor velocidad. El frente del eluyente nunca debe llegar a tocar el borde de la placa. (Bioted, s/f)

4.9 Centrifugadora

Una centrifugadora es una máquina que pone en rotación una muestra para –por fuerza centrífuga– acelerar la decantación o la sedimentación de sus componentes o fases (generalmente una sólida y una líquida), según su densidad. Existen diversos tipos, comúnmente para objetivos específicos.

Las centrífugas son equipos que en la actualidad se han ido difundiendo cada vez más en diferentes campos de la ciencia, debido a esto encontramos diversas funciones desarrolladas por los fabricantes, que satisfacen los análisis a que son sometidas las muestras. Por su constitución de sus componentes electrónicos las centrífugas pueden ser analógicas o digitales.

La fuerza centrífuga, se genera cuando un objeto rota alrededor de un punto, para separar sólidos suspendidos en un medio líquido por sedimentación o para separar líquidos de diversa densidad. Los movimientos rotacionales permiten generar fuerzas mucho más grandes que la gravedad, en períodos controlados de tiempo. (Organization, 2008).

El centrifugado es una sedimentación acelerada, ya que la aceleración de la gravedad se sustituye por la aceleración centrífuga: $\omega^2 \cdot r$, donde ω es la velocidad angular de giro de la centrifugadora, y r es la distancia al eje de la centrifugadora. Puesto que la velocidad mencionada puede ser de miles de revoluciones por minuto, se alcanzan aceleraciones mucho mayores que la intrínseca de la gravedad.

(Túnez, s/f)

La Fuerza centrífuga es dependiente de la velocidad la cual es expresada en revoluciones por minuto (RPM) un factor que es usado constantemente en diferentes centrífugas es la Fuerza centrífuga relativa (F.C.R) la cual es dependiente de la velocidad de rotación (N) en RPM y de la distancia de la partícula (r) en cm al centro de rotación. (Organization, 2008).



Figura 12. Partes de una centrifuga

Tipos de centrifugación

Los diferentes tipos de centrifugación dependen esencialmente de la velocidad y el modelo de los rotores que conforman la centrifuga, existen dos tipos de procesos de centrifugación, la centrifugación preparativa y la centrifugación analítica. La centrifugación preparativa, tiene el propósito de aislar partículas específicas, esta se divide a su vez en dos métodos de separación:

- Centrifugación diferencial.

- Centrifugación en gradiente de densidad.

La Centrifugación diferencial es el método más usado de separación de muestras, en este método, el tubo de la centrífuga se llena con una mezcla uniforme.

Tras la centrifugación se obtienen dos fracciones el material sedimentado llamado pellet y una muestra líquida que no contiene material sedimentado llamado sobrenadante, el método es bastante empírico, y a priori no se puede saber si la partícula buscada quedará en el sobrenadante, en el pellet o repartido entre ambos; sin embargo es una técnica muy útil, sobre todo para el aislamiento de células y orgánulos subcelulares. (Dávila, 2007).

4.10 Espectrofotómetro

La espectrofotometría UV-visible es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Se basa en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración. Para hacer este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro, en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma.

El fundamento de la espectroscopía se debe a la capacidad de las moléculas para absorber radiaciones, entre ellas las radiaciones dentro del espectro UV-visible. Las longitudes de onda de las radiaciones que una molécula puede absorber y la eficiencia con la que se absorben dependen de la estructura atómica y de las condiciones del medio (pH, temperatura, fuerza iónica, constante dieléctrica).

En espectroscopía el término luz no sólo se aplica a la forma visible de radiación electromagnética, sino también a las formas UV e IR, que son invisibles. En espectrofotometría de absorbancia se utilizan las regiones del ultravioleta (UV cercano, de 195- 400 nm) y el visible (400 -780 nm). (Nieves, s/f)

Funcionamiento del espectrofotómetro

Un espectrofotómetro en general consta de los siguientes componentes: una fuente de luz, un dispositivo de enfoque, un filtro de luz, una celda o cubeta de absorción, un fotodetector y un dispositivo de visualización. (García, 2018)

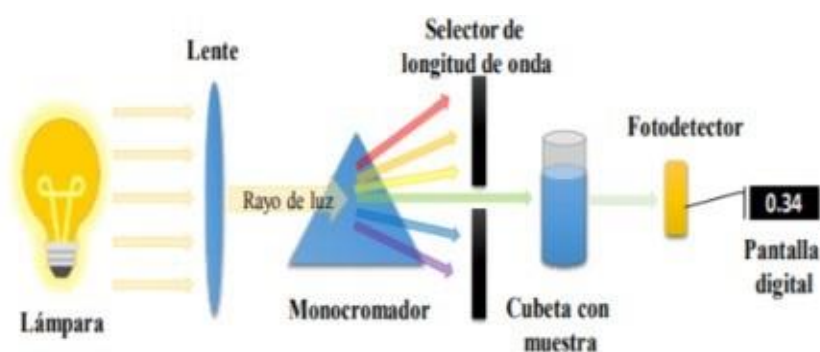


Figura 13. Diagrama de un espectrofotómetro básico

La fuente de luz debe proporcionar longitudes de onda de luz correctas e intensidad constante. Típicamente, se utiliza una bombilla de filamento de tungsteno, que proporciona luz en la longitud de onda de 380 a 800 nanómetros (nm), cubriendo la región visible, y lámparas de hidrógeno o deuterio para la región UV, ya que producen longitudes de onda entre los 190 y los 380 nm.

Mediante una lente (el dispositivo de enfoque), la luz es concentrada en un solo haz. El funcionamiento del espectrofotómetro consiste en hacer pasar este rayo de luz a través de un monocromador, un dispositivo óptico de múltiples piezas, que selecciona sólo una porción estrecha del espectro de luz.

Luego, la luz seleccionada pasa a través de la cubeta de absorción, que contiene la muestra que se está analizando.

Las cubetas son redondas o rectangulares y están construidas de vidrio, cuarzo, sílice fundida o plástico. Es importante que el material de la cubeta no absorba luz en las longitudes de onda en las que se está midiendo. Debido a que el vidrio óptico absorbe luz por debajo de los 350 nm, se utilizan cubetas de cuarzo para trabajar en el rango UV. Cuando la luz pasa a través de la muestra, parte del espectro es absorbido por la misma.

La capacidad de absorción de la radiación depende de la estructura de las moléculas, siendo definida por su grupo funcional. La luz no absorbida por la muestra sale de la cubeta y llega un fotodetector, que registra la transmitancia. La transmitancia óptica (T) es la relación entre la cantidad de luz transmitida por la muestra y la cantidad de luz incidente, y generalmente se expresa en forma de porcentaje. Si una muestra posee una transmitancia del 50 %, significa que transmite la mitad de la luz que recibe. (GESAP, como se citó en García, 2018)

4.10.1 Región UV

La región UV se define como el rango de longitudes de onda de 195 a 400 nm. Es una región de energía muy alta. Provoca daño al ojo humano así como quemadura común. Los compuestos con dobles enlaces aislados, triples enlaces, enlaces peptídicos, sistemas aromáticos, grupos carbonilos y otros heteroátomos tienen su máxima absorbancia en la región UV, por lo que ésta es muy importante para la determinación cualitativa y cuantitativa de compuestos orgánicos. Diversos factores -como pH, concentración de sal y el solvente- que alteran la carga de las moléculas, provocan desplazamientos de los espectros UV. La fuente de radiación ultravioleta es una lámpara de deuterio.

4.10.2 Región visible

En la región visible se aprecia el color visible de una solución y que corresponde a las longitudes de onda de luz que transmite, no que absorbe. El color que absorbe es el complementario del color que transmite. Por tanto, para realizar mediciones de absorción es necesario utilizar la longitud de onda en la que absorbe luz la solución coloreada. La fuente de radiación visible suele ser una lámpara de tungsteno y no proporciona suficiente energía por debajo de 320 nm.

4.10.3 Transmitancia

La transmitancia (T) de una sustancia en solución es la relación entre la cantidad de luz transmitida que llega al detector una vez que ha atravesado la muestra, I_t , y la cantidad de luz que incidió sobre ella, I_o , y se representa normalmente en tanto por ciento: $\% T = I_t/I_o \times 100$. La transmitancia da una medida física de la relación de intensidad incidente y transmitida al pasar por la muestra. La relación entre % T y la concentración no es lineal, pero asume una relación logarítmica inversa. (Nieves, s/f)

4.10.4 Absorbancia

La absorbancia (A) es un concepto más relacionado con la muestra puesto que indica la cantidad de luz absorbida por la misma, y se define como el logaritmo de $1/T$. Cuando la intensidad incidente y transmitida son iguales ($I_o = I_t$), la transmitancia es del 100 % e indica que la muestra no absorbe a una determinada longitud de onda, y entonces A vale $\log 1 = 0$.

La cantidad de luz absorbida dependerá de la distancia que atraviesa la luz a través de la solución del cromóforo y de la concentración de éste. (Nieves, s/f)

4.11 Antecedentes

4.11.1 Pigmentos

Aston (como se citó en “Extracción de pigmentos o colorantes naturales a partir de residuos de aguacate”, 2016), concluye que los carotenoides y clorofilas identificados en la piel, pulpa y aceites fueron: α -caroteno, β -caroteno, neoxantina, violaxantina, zeaxantina, anteraxantina, clorofila a y b, y feofitinas a y b, las más altas concentraciones de todos los pigmentos se hallaron en la piel o corteza. Las clorofilas a y b solo fueron identificadas en la piel y pulpa de aguacate.

4.11.2 Betacaroteno

Beltrán, concluye que la concentración de β -caroteno en palta Hass madura es de 81 μg /100 g de porción comestible.

Alimento (variedad o procesamiento)	Nombre científico (binomial)	PC	Luteína	Zeaxantina	Lut+Zeax	Licopeno	α -caroteno	β -caroteno
<i>Alimentos de origen vegetal</i>								
Aceite de oliva virgen (hojiblanca)	Olea europaea	100	599	-	599	-	-	219
Aceite de oliva virgen (picual)	Olea europaea	100	934	-	934	-	-	233
Aceitunas con hueso (verdes en vinagre y enlatadas)	Olea europaea							207
Acelgas, tallos y hojas (cocidas)	Beta vulgaris	88	1.960	-	1.960	-	-	1.360
Acelgas, tallos y hojas (crudas)	Beta vulgaris	88	1.503	-	1.503	-	-	1.095
Aguacate	Persea americana	72	314	-	-	-	29	81
Albaricoque	Prunus armeniaca L.	93	tr	tr	tr	-	-	140
Albaricoque desecado (raisonné)	Prunus armeniaca L.				67*	-	0	877

Tabla N° 3: Contenido de carotenos y xantofilas de alimentos consumidos en España, expresado en μg /100 g de porción comestible

4.11.3 Clorofilas a y b

García, Carrillo y Bravo, exponen que la concentración de clorofila a en palta Hass es de 0,52 mg/g, mientras que la concentración de clorofila b es de 1,21 mg/g.

Especie	Clorofila A (mg/g)	Clorofila B (mg/g)	Compuestos fenólicos totales (mg/g)
Palta Criollo	0,47	1,13	6,18
Palta Hass	0,52	1,21	7,42

Tabla N°4: Concentración de fitoquímicos en frutos de aguacate.

4.11.4 Microorganismos presentes en palta Hass

Un informe de la Administración de Alimentos de los Estados Unidos (FDA) reveló que las cáscaras de palta pueden contener bacterias, como la *listeria* y la *salmonella*.

5. METODOLOGÍA

5.1 Plan de muestreo

- Se seleccionaron 3 paltas en un puesto de frutas y verduras llamado “El mercado”, ubicado sobre la ruta 8, a la altura del km 30, en la ciudad de Pando.
- Se seleccionaron 3 paltas en un puesto de frutas y verduras ubicado en una feria entre el km 24 de la ruta 8 y comienzo de ruta 74, dicho lugar perteneciente al municipio de Barros Blancos.

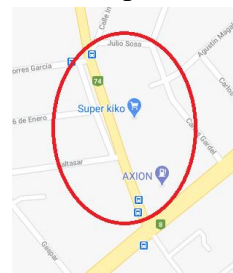


Figura N° 15. Ubicación de la feria

Figura N° 14: Ubicación del puesto de frutas y verduras.

- Las paltas fueron seleccionadas teniendo en cuenta algunas propiedades organolépticas, tales como color, aroma y textura:
 - El color de la cáscara debía ser uniforme, sin grietas o imperfecciones visibles. Se evitaron las frutas que presentaran zonas carentes de cáscara.
 - El aroma de las frutas debía ser fresco, con un dejo de dulzor. Se evitaron frutas que presentaran aroma rancio o similar.
 - La textura debía ser uniforme, sin presencia de obstáculos al tacto. Al ejercer una leve presión sobre el fruto, se debía evidenciar una textura blanduzca pero consistente.

5.2 Transporte de la materia prima

Las paltas fueron transportadas en bolsas de nylon, evitando movimientos bruscos. Se tuvo la precaución de no golpear las frutas unas contra otras durante el periodo de compra, traslado y análisis de las mismas.

5.3 Preparación de la materia prima

Una vez llegado al lugar de estudio, se procedió con la primera etapa de higienización de las paltas, llevando a cabo el siguiente procedimiento:

1. Se eliminaron tallos y hojas presentes en las paltas.
2. Posteriormente, con las manos, se eliminaron restos de tierra.

5.4 Determinación de efectividad de diferentes lavados

5.4.1 Esterilización del material

Materiales: Autoclave, papel azul, algodón, cinta, guantes.

Soluciones: Solución alcohólica al 70 %, agua destilada.

Procedimiento:

- 1) Se limpió con alcohol el material a utilizar.
- 2) Todo el material se debió acondicionar debidamente para ser colocado en la autoclave. Esto incluyó la colocación de algodón en matraces y pipetas, y el forrado con papel azul de las placas de Petri.
- 3) Se colocó agua suficiente en la autoclave y se preparó para su utilización.
- 4) Se colocaron los materiales a esterilizar dentro de la autoclave.
- 5) Se cerró la autoclave y se puso en funcionamiento.

- 6) Luego de transcurrido el tiempo necesario para la esterilización, se sacó el material y se mantuvo bajo la menor manipulación posible.

5.4.2 Lavado de materia prima

Materiales: paltas, recipientes contenedores.

Soluciones: Agua, jabón, hipoclorito de sodio al 10 %.

Procedimiento:

- 1) Se tomaron 3 paltas y se etiquetaron según el tipo de lavado al que fueron sometidas, siendo estos: - hipoclorito de sodio
- agua
- agua + jabón.
- 2) En el caso de lavado solo con agua, se procedió, utilizando guantes, a exponer la palta a un flujo de agua corriente durante 1 minuto, cambiando posiciones cada aproximadamente 20 segundos.
- 3) En el caso de lavado con agua y jabón, se procedió a humedecer la palta con agua del grifo. Posteriormente, utilizando guantes, se colocó sobre la palta una alcuota de jabón, la cual fue esparcida con movimientos circulares por toda la palta, provocando la generación de espuma. Luego se eliminó la espuma por medio de barrido con agua.
- 4) En el caso de lavado con hipoclorito de sodio, se procedió, utilizando guantes, a sumergir la palta dentro de una solución al 10 % de hipoclorito durante 1 minuto. No se efectuó enjuague con agua del grifo.

5.4.3 Cultivo de microorganismos

Materiales: Paltas, placas de Petri, mecheros de alcohol, cotonetes y parafilm.

Soluciones: Caldos de Agar-agar y TSB.

Procedimiento:

- 1) Se prendieron los mecheros.
- 2) Las placas de Petri fueron divididas a la mitad y rotuladas según el tipo de siembra a realizar.
- 3) En una mitad, con cotonetes se realizó el sembrado por estrías.
- 4) En la otra mitad se realizó un sembrado por arrastre de cáscara.
- 5) Se realizó este procedimiento para los 3 tipos de lavados.
- 6) Luego del sembrado, se selló cada placa con parafilm.
- 7) Posteriormente, las placas con TSB se dejaron incubar a 37 °C.
- 8) Luego de incubar durante varios días, se realizó reconocimiento de bacterias con ayuda del microscopio.

5.5 Identificación de pigmentos

Materiales: Palta, balanza auxiliar, mortero, papel de cromatografía, lápiz, regla, tubo capilar, cuba de cromatografía.

Sustancias y/o soluciones: Propanona, agua destilada, éter de petróleo.

Procedimiento:

- 1) En balanza auxiliar, se tomaron 5 gramos de palta.
- 2) En un mortero se homogeneizó la palta con acetona al 100 %.
- 3) Dentro de la cuba de cromatografía se colocaron aproximadamente 100 mL de una mezcla de propanona-éter de petróleo 10:90.
- 4) En una tira de papel de cromatografía, se marcó un punto a 2 cm del extremo inferior.
- 5) Con la ayuda de un capilar de vidrio se sembró el extracto de pigmentos en el punto marcado previamente.

- 6) Se esperó a que la muestra se secase en el papel.
- 7) La tira de papel de cromatografía se colocó dentro de la cuba de forma vertical.
- 8) Se dejó correr la cromatografía durante un periodo de 20 minutos aproximadamente.
- 9) Transcurrido este tiempo, se retiró el cromatograma de la cuba y se marcaron con papel las zonas donde se presentaron las marcas de colores.

5.6 Concentración de betacaroteno

Materiales: Palta, balanza auxiliar, pipeta aforada de 20,0 mL, matraz Erlenmeyer de 50 mL, embudo Buschner, papel de filtro, matraz aforado de 100,00 mL, bola de decantación de 100 mL, probeta, espectrofotómetro, cuba de espectrofotómetro, soporte universal, pinzas.

Sustancias y soluciones: Propanona, etanol, agua destilada, hexano.

Procedimiento:

- 1) En balanza auxiliar se tomaron 2,0 gramos de palta.
- 2) Se homogeneizó con 20 mL de una mezcla de propanona-etanol (1:1).
- 3) Se dejó reposar por 24 horas a una temperatura de $(4 \pm 2) ^\circ\text{C}$
- 4) La solución resultante, se filtró al vacío utilizando un embudo Buchner.
- 5) El filtrado fue transferido a un matraz aforado de 100,00 mL y se aforó con solución de propanona-etanol (1:1).
- 6) Se transfirió la solución a una bola de decantación en la que se colocaron 50,0 mL de hexano y 25,0 mL de agua. Se agitó vigorosamente.
- 7) Se dejó reposar durante 30 minutos para que se diera la separación de fases.
- 8) Pasados los 30 minutos, se tomó la fase orgánica y se descartó lo restante.
- 9) El espectrofotómetro se calibró utilizando hexano como blanco.
- 10) Se midió la absorbancia de la fase orgánica utilizando el espectrofotómetro a una longitud de onda de 470 nm.
- 11) Con el valor de absorbancia obtenido, se realizaron los cálculos de concentración correspondiente.

5.7 Concentración de clorofila A y B:

Materiales: balanza auxiliar, mortero, pipeta graduada de 5 mL, tubos de centrifuga, centrífuga, pipeta Pasteur, espectrofotómetro, celdas de espectrofotómetro.

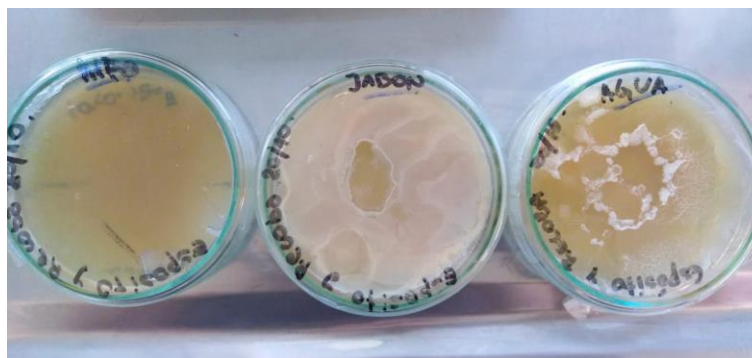
Sustancias y soluciones: propanona al 80 %.

Procedimiento:

- 1) Se tomaron 0,5 g de muestra de palta y se machacaron en un mortero adicionando 5 mL de propanona al 80 %.
- 2) Posteriormente, se colocó la muestra macerada en un tubo de centrifuga y se centrifugó a 2000 rpm durante 10 minutos.
- 3) Se separó el sobrenadante, que contenía los pigmentos.
- 4) Del sobrenadante, se tomaron 0,5 mL y se diluyeron hasta 5 mL con propanona.
- 5) Se ajustó el espectrofotómetro usando como blanco una solución de propanona.
- 6) En el espectrofotómetro, se midieron las absorbancias de la muestra con una longitud de onda de 645 y 663 nm.
- 7) Finalmente, se realizaron los cálculos correspondientes de concentración.

6. RECOLECCIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

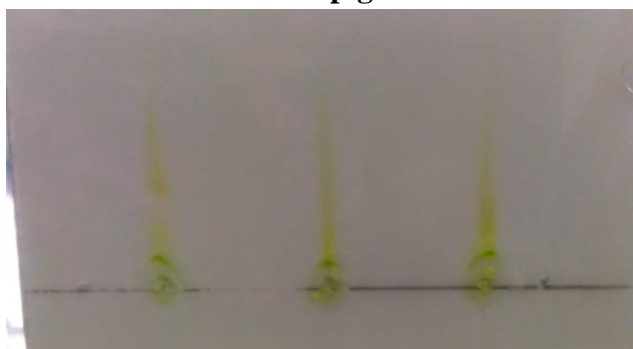
6.1 Determinación de efectividad de diferentes lavados:



Resultado de crecimiento microbiano.

Los cultivos correspondientes a las frutas tratadas solo con agua de grifo y agua de grifo más jabón presentaron crecimiento notorio de bacterias, cuya morfología correspondió a coco. El cultivo perteneciente al lavado con hipoclorito de sodio al 10 % no presentó crecimiento de microorganismos.

6.2 Identificación de pigmentos:



Los pigmentos identificados fueron clorofila a, clorofila b y betacaroteno.

Durante el desarrollo de la cromatografía se evidenció una diferencia de solubilidad de los pigmentos, dado que se dio la aparición de bandas de color a diferentes distancias.

6.3 Concentración de betacaroteno:

Ver cálculos realizados en anexo 10.2.1

Punto de maduración	Concentración de betacaroteno
Palta verde	$(45,9692 \pm 0,0069) \mu\text{g} / 100 \text{ g}$
Palta semi-madura	$(46,978 \pm 0,012) \mu\text{g} / 100 \text{ g}$
Palta madura	$(31,723 \pm 0,023) \mu\text{g} / 100 \text{ g}$

Tabla N° 4: Concentración de betacaroteno en palta Hass.

Con estos datos obtenidos se realizó un gráfico de concentración vs punto de madurez. Dicho gráfico se expone a continuación:

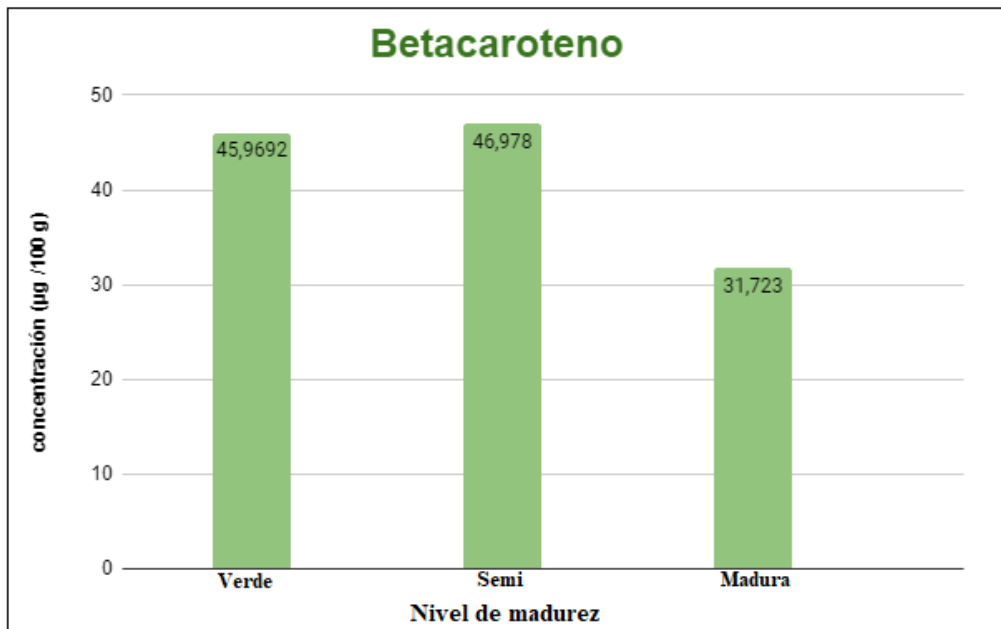


Gráfico N° 1: Contenido de betacaroteno en palta Hass

Se determinó que la concentración de betacaroteno presente en la palta semi-madura es mayor a la concentración en la palta verde. En cuanto a la madura, se evidenció un descenso de la concentración con respecto a las paltas anteriormente estudiadas.

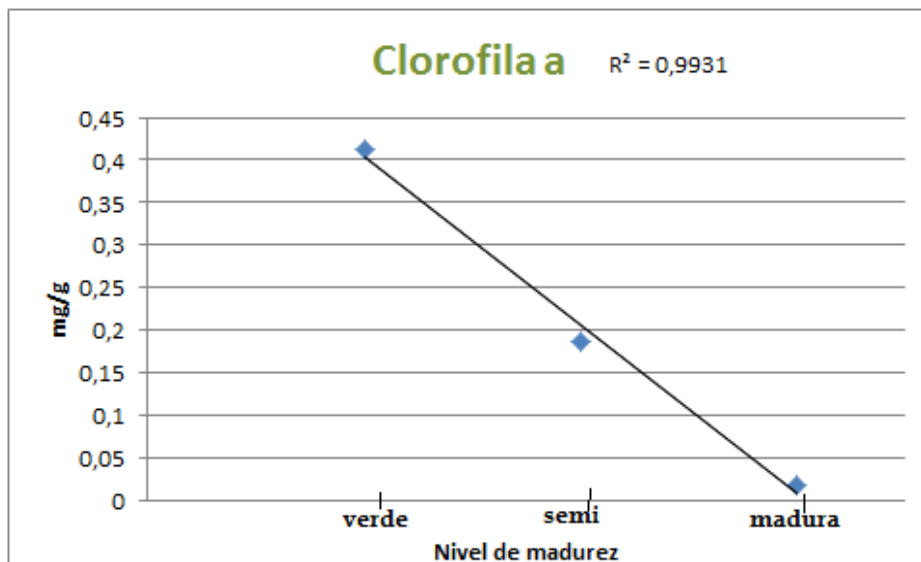
6.4 Concentración de clorofila A

Ver cálculos realizados en anexo 10.2.2

Punto de madurez	Concentración de clorofila A
Palta verde	(0,41 ± 0,01) mg /g
Palta semi-madura	(0,19 ± 0,01) mg /g
Palta madura	(0,018 ± 0,001)mg /g

Tabla N° 5: Concentración de clorofila A en palta Hass

Con estos datos obtenidos se realizó un gráfico de concentración vs madurez. Dicho gráfico se presenta a continuación:



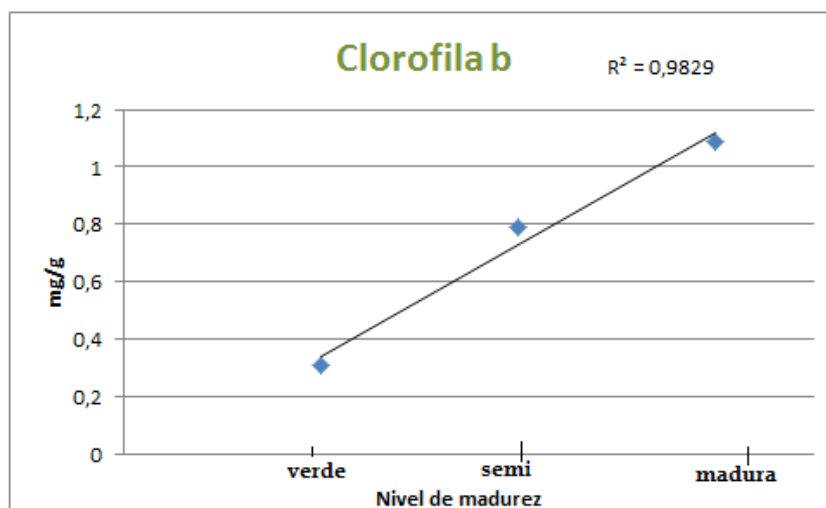
A medida que transcurre el proceso de maduración de la palta, la concentración de clorofila a desciende considerablemente. En resumen, a mayor madurez, menor concentración de clorofila a en pulpa de palta Hass.

6.5 Concentración de clorofila B:

Punto de madurez	Concentración de clorofila B
Verde	$(0,31 \pm 0,01)$ mg /g
Semi-madura	$(0,79 \pm 0,01)$ μ g /g
Madura	$(1,09 \pm 0,01)$ mg /g

Tabla N° 6: Concentración de clorofila B en palta Hass.

Con estos datos obtenidos se realizó un gráfico de concentración vs madurez. Dicho gráfico se expone a continuación:

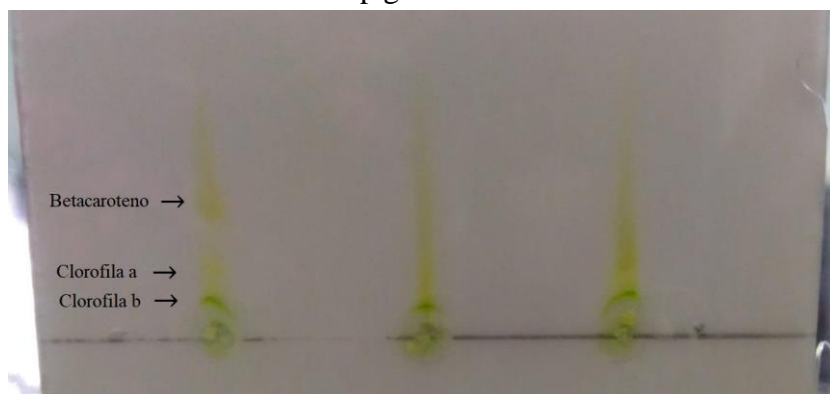


A medida que transcurre el proceso de maduración de la palta, la concentración de clorofila b aumenta considerablemente. En resumen, a mayor madurez, mayor concentración de clorofila b en pulpa de palta Hass.

7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS Y CONCLUSIÓN

Para poder determinar de forma generalizada la concentración de pigmentos en palta Hass, se deben analizar una cantidad copiosa de muestras, para poder así lograr un resultado representativo de esta fruta, ya que dichas concentraciones podrían variar según el momento y lugar de la cosecha.

Según Aston, los pigmentos presentes en palta Hass son α -caroteno, β -caroteno, neoxantina, violaxantina, zeaxantina, anteraxantina, clorofilas a y b, y feofitinas a y b; los pigmentos reconocidos en esta investigación (como se muestra en la imagen) fueron β -caroteno y clorofilas a y b, cumpliendo así con uno de los objetivos: el reconocimiento de pigmentos.



Resultado de la cromatografía

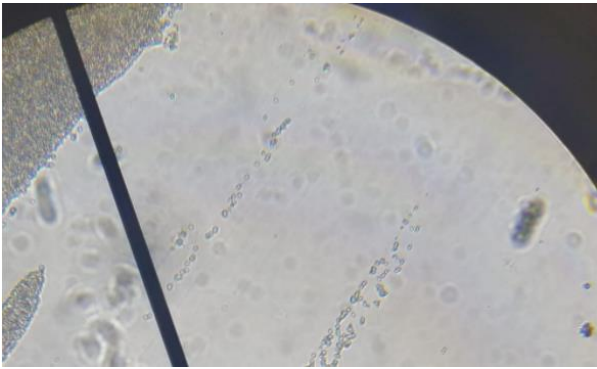
La concentración de β -caroteno en palta Hass, según Beltrán, es de $81 \mu\text{g} / 100 \text{g}$ y los valores obtenidos fueron: palta verde ($45,9692 \pm 0,0069$) $\mu\text{g} / 100 \text{g}$, palta semi-madura ($46,978 \pm 0,012$) $\mu\text{g} / 100 \text{g}$ y palta madura ($31,723 \pm 0,023$) $\mu\text{g} / 100 \text{g}$. Si bien las concentraciones obtenidas son menores a la expuesta por Beltrán, debe tenerse en cuenta el punto de madurez de la fruta, ya que $81 \mu\text{g} / 100 \text{g}$ corresponde a una fruta madura. De todos modos, el resultado práctico obtenido en palta madura se encuentra por debajo del resultado de Beltrán, esto se puede deber a las interferencias, tales como la inestabilidad del β -caroteno, el cual se puede descomponer con la luz solar u oxidarse en contacto con el dióxigeno del aire.

La concentración de clorofila a según García, Carrillo y Bravo, es de $0,52 \text{mg/g}$, y los valores obtenidos fueron: palta verde ($0,41 \pm 0,01$) mg / g , palta semimadura ($0,19 \pm 0,01$) mg / g y palta madura ($0,018 \pm 0,001$) mg / g). El resultado obtenido para la palta verde es el que más se acerca a lo establecido por García, lo cual tiene coherencia, debido a que la clorofila a es la encargada, entre otras cosas, de proporcionar la coloración verde. En cuanto a la clorofila b, la bibliografía utilizada expone una concentración de $1,21 \text{mg/g}$, y los resultados obtenidos fueron: palta verde ($0,31 \pm 0,01$) mg / g , semimadura ($0,79 \pm 0,01$) y madura ($1,09 \pm 0,01$) mg / g . El valor correspondiente a la palta madura es el más cercano a lo establecido por García.

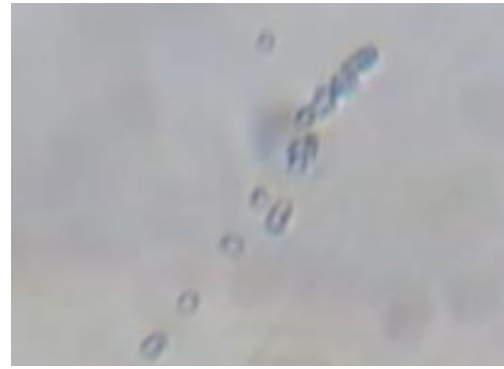
Con los resultados obtenidos se concluye que al aumentar la madurez de la palta descende la concentración de clorofila a, mientras que la de clorofila b asciende. Por otra parte, se concluye que cuanto más madura es la palta, mayor es la concentración de betacaroteno, y que a su vez este pigmento es de fácil descomposición. Por otra parte, la concentración de betacaroteno en los 3 puntos de maduración, es menor que las concentraciones de clorofila a y clorofila b.

En cuanto a la higienización de esta fruta, se determinó que el método más eficiente es el lavado con hipoclorito de sodio al 10 %. Dicha determinación se realizó en base a observaciones de los cultivos realizados: el cultivo correspondiente a hipoclorito de sodio no presentó crecimiento de microorganismos, a diferencia de los cultivos correspondientes a los lavados con agua de grifo y agua

de grifo más jabón. Por otra parte, se descartó la presencia de *listeria* y la *salmonella* debido a que éstas bacterias son bacilos y en las observaciones al microscopio se identificaron solamente bacterias del tipo coco. (Ver imágenes)



Cultivo visto con el microscopio.



Estructuras identificadas (cocos).

8. PERSPECTIVAS

Algunas de las posibles líneas para continuar la investigación son:

- Estudio de factores que provocan o contribuyen a la descomposición del betacaroteno.
- Especie o compuesto que se forma como producto de la descomposición del betacaroteno.
- Presencia de otros pigmentos presentes en palta Hass.
- Identificación de la o las especies de bacterias presentes.

9. BIBLIOGRAFÍA

Información:

- Ames J. (2015). “EFECTO DEL TRATAMIENTO TÉRMICO DE LA PALTA (*Persea americana* Mill. var. *Fuerte*) PARA LA EXTRACCIÓN DE ACEITE”. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Tacna, Perú. Recuperado el 03 de agosto de: http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/1762/604_2015_ames_herrera_jf_facg_alimentarias.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Villar M. (2016). “COMPOSICIÓN NUTRICIONAL Y COMPONENTES BIOACTIVOS DE CUATRO VARIETADES DE PALTAS (*Persea americana*) COMERCIALES CHILENAS. COMPARACIÓN DE COMPONENTES BIOACTIVOS, COSECHAS 2011-2012”. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Santiago, Chile. Recuperado el 03 de agosto de 2020 de: <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/137794/Composicion-nutricional-y-componentes-bioactivos-de-cuatro-variedades-de-paltas-persea-americana.pdf%3Bsequence=1>
- Heylin K. (s/f). *Antecedentes palta*. Scribd. Recuperado el 03 de agosto de 2020 de <https://es.scribd.com/document/379946114/ANTECEDENTES-PALTA-docx>
- Agroempresario. (2020). *Tipos de paltas*. Argentina. Recuperado el 03 de agosto de 2020 de <https://www.agroempresario.com.ar/notas-7634.html>
- Zudaire M. (2002). *El aguacate*. Consumer. España. Recuperado el 06 de agosto de 2020 de <https://www.consumer.es/alimentacion/el-aguacate.html>
- Quintana A., Hurtado M., Hernández C. y Palacios E. (2018). Carotenoides. *Revista Ciencia*. México. Recuperado el 06 de agosto de 2020 de https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/69_4/PDF/10_69_4_1106_Carotenoides_L.pdf

- Nutrifacts. (s/f). *BETACAROTENO Funciones para la salud*. España. Recuperado el 06 de agosto de 2020 de [https://www.nutri-facts.org/es_ES/nutrients/carotenoids/beta-carotene/health-functions.html#:~:text=El%20betacaroteno%20es%20la%20principal,y%20la%20vista%20\(1\)](https://www.nutri-facts.org/es_ES/nutrients/carotenoids/beta-carotene/health-functions.html#:~:text=El%20betacaroteno%20es%20la%20principal,y%20la%20vista%20(1))
- Curetti M. (s/f). *Clorofila*. Ministerio de agricultura, ganadería y pesca. Argentina. Recuperado el 10 de agosto de 2020 de <https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-clorofila.pdf>
- Jáuregui M., Calvo M. y Pérez F. (2011). Carotenoides y su función antioxidante: Revisión. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Recuperado el 10 de agosto de 2020 de <https://www.alanrevista.org/ediciones/2011/3/art-1/>
- Burton G. *Antioxidant action of carotenoids*. J Nutrition. 1989; 119: 109-111.
- Báez J. (2007). *Xantofilas*. Universidad de Guanajuato. Guanajuato, Mexico. Recuperado el 10 de agosto de 2020 de <http://www.dcne.ugto.mx/Contenido/revista/numeros/7/A6.pdf>
- García G. y Vázquez L. (2015). *Guías de prácticas correctas de higiene para vegetales y derivados, frescos, mondados, troceados o envasados*. Generalitat de Catalunya. Catalunya, España. Recuperado el 10 de agosto de 2020 de http://coli.usal.es/web/Guias/pdf/GPCH_vegetales_iv_gama_Cat.pdf
- García S., Carrillo M. y Bravo A. (2016). “Influencia del riego y radiación solar sobre el contenido de fitoquímicos en la piel de frutos de aguacate ‘Hass’”. Revista mexicana de ciencias agrícolas. México. Recuperado el 06 de noviembre de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342016000902565&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Carmín S. (2018). *FDA advierte lavar las paltas antes de consumirlas por esta razón*. El Tiempo. Recuperado el 03 de agosto de 2020 de <https://eltiempo.pe/atencion-fda-advierte-lavar-las-paltas-antes-de-consumirlas-por-esta-razon/#:~:text=Un%20nuevo%20informe%20de%20la,la%20listeria%20y%20la%20salmonela>
- Elika. (2013). *Salmonella*. Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria. Recuperado el 04 de agosto de 2020 de http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento82/1.Salmonella.pdf
- Oteo J., y Alós, J. (s/f). *Listeria Y LISTERIOSIS*. Servicio de Microbiología. Hospital de Móstoles. Móstoles. Madrid. Recuperado el 04 de agosto de 2020 de <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/listeria.pdf>
- EduLabC. (2019). *Medios de cultivo*. Educación sobre Laboratorio Clínico. Ciudad de Mexico, Mexico. Recuperado el 05 de agosto de 2020 de <https://edulabc.com.mx/medios-de-cultivo/#:~:text=Un%20medio%20de%20cultivo%20es,identificarlas%20y%20realizar%20estudios%20complementarios>
- Laboratorio Químico. (s/f). *Autoclave de Laboratorio*. Recuperado el 05 de agosto de 2020 de <https://www.tplaboratorioquimico.com/laboratorio-quimico/materiales-e-instrumentos-de-un-laboratorio-quimico/autoclave-de-laboratorio.html>

- QFA. (s/f). *Cromatografía en capa fina*. Facultad de Química Unam. México. Recuperado el 05 de agosto de 2020 de <http://www.qfa.uam.es/qb/practicas/P6-guion.pdf>
- Bioted. (s/f). *Principios de la cromatografía en capa fina*. Productos de investigación en Biología Molecular. Barcelona, España. Recuperado el 17 de agosto de 2020 de <https://www.bioted.es/wp-content/uploads/2020/02/PRINCIPIOS-CROMATOGRAFIA-EN-CAPA-FINA-1.pdf>
- Organization. (2008). *Diagnóstico, mantenimiento y repotenciación en equipos biomédicos de centrifugación de laboratorio*. Universidad de Cundinamarca. Cundinamarca, Colombia. Recuperado el 17 de agosto de 2020 de <http://repositorio.ucundinamarca.edu.co/bitstream/handle/20.500.12558/1377/DIAGN%20C%20STICO%20MANTENIMIENTO%20Y%20REPOTENCIACION%20EN%20EQUIPOS%20BIOMICROSCOPICOS%20DE%20CENTRIFUGACION%20DE%20LABORATORIO....pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Túnez I., Muñoz M. y López P. (s/f). *Centrifugación. Estudio del hematocrito*. Facultad de medicina. Córdoba, Argentina. Recuperado el 15 de agosto de 2020 de <https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/09%20CENTRIFUGACION.pdf>
- Nieves A., Bárcena A., Fernandez E., Galván A., Jorrín J., Peinado J. y Toribio F., Túnez I. (s/f). *Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas*. Facultad de medicina. Córdoba, Argentina. Recuperado el 11 de agosto de 2020 de https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf
- García R. (2018). *Instrumentos que revolucionaron la química: la historia del espectrofotómetro*. Avances en Química. San Carlos de Bariloche, Argentina. Recuperado el 11 de agosto de 2020 de https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/87008/CONICET_Digital_Nro.14279992-2fa1-48b5-93d6-7674ea150cf9_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- Aston. (2016). *Extracción de pigmentos o colorantes naturales a partir de residuos de aguacate*. Tecnoparque nodo Rionegro. Antioquia, Colombia. Recuperado el 15 de agosto de 2020 de <http://asgainnovation.com/wp-content/uploads/Publicaciones/Boletin%20InnoViTech%20Aguacate-Ejemplo%20Completo.pdf>
- Beltrán B., Estévez R., Cuadrado C., Giménez S. y Olmedilla B. (2012). “*Base de datos de carotenoides para valoración de la ingesta dietética de carotenos, xantofilas y de vitamina A; utilización en un estudio comparativo del estado nutricional en vitamina A de adultos jóvenes*”. Facultad de Farmacia. Madrid, España. Recuperado del 05 de noviembre de 2020 de <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/5886.pdf>
- Píre M., Mota M. (s/f). “*Morfología y estructura bacteriana*” Recuperado el 09 de noviembre de 2020 de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/MorfologiayEstructuraBacteriana.pdf>

Figuras/ Imágenes:

- N°1: *Árbol Persea Americana*. Recuperada el 08 de agosto de 2020 de <https://agrotendencia.tv/agropedia/el-cultivo-del-aguacate-o-palta/>

- N°2: Palta con corte transversal. Recuperada el 09 de agosto de 2020 de <https://naturalezaorganica.com/2018/12/15/palta/>
- N°3: Variedades de palta. Recuperada el 10 de agosto de 2020 de <https://www.agroempresario.com.ar/notas-7634.html>
- N°4: Estructura del β -caroteno. Recuperada el 09 de agosto de 2020 de <https://es.dreamstime.com/foto-de-archivo-f%C3%B3rmula-estructural-del-betacaroteno-image22277540>
- N°5: Estructura de la clorofila. Recuperada el 10 de agosto de 2020 de http://almez.pntic.mec.es/~jrem0000/dpbg/Fotosintesis/clorofila_y_pigmentos_accesorios.html
- N°6: Estructura de una célula vegetal y ubicación de los cloroplastos. Recuperada el 10 de agosto de 2020 de https://lh3.googleusercontent.com/proxy/fL1hKSkjsyRPHjOh7yWhiDWlrEzF_JIWMMpzGoCWs-BWvFT1BY-4TDgnaUUcGe5tZ5E2zExCB_ddXPMsNMuneooD_CU55tdALQVYXev7Pi1M0I0_PRJhMoVOOBmVYUA
- N°7: Estructura de un cloroplasto. Recuperada el 11 de agosto de 2020 de https://s1.significados.com/foto/cloroplastos-21_bg.jpg
- N°8: Absorción de la clorofila a y b. Recuperada el 11 de agosto de 2020 de http://www.cofes.org.ar/descargas/relas/7_jornada/6_CLOROFILA.pdf
- N°9: *Salmonella*. Recuperada de http://www.cofes.org.ar/descargas/relas/7_jornada/6_CLOROFILA.pdf
- N°10: *L. monocytogenes*. Recuperada el 12 de agosto de 2020 de https://www.ecured.cu/Listeria_monocytogenes
- N°11: Autoclave. Recuperada el 12 de agosto de 2020 de <https://spanish.alibaba.com/product-detail/fyldj-series-18l-24l-30l-autoclave-validation-pdf-protocol-pdf-veterinary-60624443340.html>
- N°12: Partes de una centrífuga. Recuperada el 13 de agosto de 2020 de <http://azucenapopocaflores.blogspot.com/2014/12/la-palabra-centrifuga-de-la-palabra.html>
- N° 13: Diagrama de un espectrofotómetro básico. Recuperada el 13 de agosto de 2020 de https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/87008/CONICET_Digital_Nro.14279992-2fa1-48b5-93d6-7674ea150cf9_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- N° 14: Ubicación del puesto de frutas y verduras. Recuperada el 15 de agosto de 2020 de <https://www.google.com.uy/maps/place/EI+Mercado/@-34.7215906,-55.9514896,17z/data=!4m5!3m4!1s0x95a026a29e74d95d:0xdab11b37ec89e31f!8m2!3d-34.7231394!4d-55.9580744>
- N° 15: Ubicación de la feria. Recuperada el 15 de agosto de 2020 de <https://www.google.com.uy/maps/place/EI+Mercado/@-34.7615415,->

[56.0158254,16z/data=!4m5!3m4!1s0x95a026a29e74d95d:0xdab11b37ec89e31f!8m2!3d-34.7231394!4d-55.9580744](https://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/msds/MDA_CHEM-101614?Origin=PDP)

Fichas de seguridad:

- Agar-agar. Extraído de Merck. Recuperado el 20 de octubre de 2020 de https://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/msds/MDA_CHEM-101614?Origin=PDP
- Etanol al 95 %. Extraído de Merck. Recuperado el 14 de octubre de 2020 de https://www.google.com/url?q=https://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?term%3Detanol%26interf ace%3DAI%26N%3D0%2B%26mode%3Dpartialmax%26lang%3Den%26region%3DUY%26focus% 3Dproduct%26gclid%3DCjwKCAjww5r8BRB6EiwArcckC4LMCpO_RcTocBa1PoA-18sPwyO0bZbmFZDbJVGumJp84rUXJam-jxoCbs0QAvD_BwE&sa=D&ust=1603224737764000&usg=AOvVaw3KXMbLCvr-sR36ogzFQeO5
- Éter de petróleo. Extraído de Merck. Recuperado el 14 de octubre de 2020 de https://www.google.com/url?q=https://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/Petroleum- ether,MDA_CHEM-101769?ReferrerURL%3Dhttps%253A%252F%252Fwww.google.com%252F&sa=D&ust=1603224737759000&usg=AOvVaw3KCXr6in4SgLKSTZAoi31l
- Hexano. Extraído de Merck. Recuperado el 14 de octubre de 2020 de https://www.google.com/url?q=https://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/n- Hexane,MDA_CHEM-104369?ReferrerURL%3Dhttps%253A%252F%252Fwww.google.com%252F&sa=D&ust=1603224737765000&usg=AOvVaw3UcAfEUd80qCbzvBL57zWz
- Hipoclorito de sodio 10 %. Extraído de Merck. Recuperado el 12 de octubre de 2020 de https://www.google.com/url?q=https://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/Sodium- hypochlorite-solution,MDA_CHEM-105614?ReferrerURL%3Dhttps%253A%252F%252Fwww.google.com%252F&sa=D&ust=1603224737723000&usg=AOvVaw1D9cnEo8URGPAHl_Jdjbxg
- Propanona al 100 %. Extraído de Merck. Recuperado el 14 de octubre de 2020 de https://www.google.com/url?q=https://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/Acetone,MDA_CH EM-100014?ReferrerURL%3Dhttps%253A%252F%252Fwww.google.com%252F&sa=D&ust=1603224737758000&usg=AOvVaw0H9jtA7Vvp5z3lUXOpbkxr
- Propanona al 80 %. Extraído de Merck. Recuperado el 14 de octubre de 2020 de https://www.google.com/url?q=https://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/Acetone,MDA_CH EM-100014?ReferrerURL%3Dhttps%253A%252F%252Fwww.google.com%252F&sa=D&ust=1603224737766000&usg=AOvVaw09hBEcGjEEGzWTKulVr2ss
- Solución alcohólica al 70 %. Extraído de Merck. Recuperado el 12 de octubre de 2020 de https://www.google.com/url?q=https://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/Ethanol- absolute,MDA_CHEM-

[107017?referrerURL%3Dhttps%253A%252F%252Fwww.google.com%252F&sa=D&ust=1603224737722000&usg=AOvVaw0oAXIoiQHLit2ZFZSQdEzq](https://www.google.com/search?q=107017?referrerURL%3Dhttps%253A%252F%252Fwww.google.com%252F&sa=D&ust=1603224737722000&usg=AOvVaw0oAXIoiQHLit2ZFZSQdEzq)


- TSB. Extraído de Merck. Recuperado el 20 de octubre de 2020 de https://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/msds/MDA_CHEM-100550?Origin=PDP

10. ANEXOS


10.1 Medidas de seguridad

Determinación de efectividad de diferentes lavados


Esterilización de material:

<i>Sustancia</i>	<i>Concentración</i>	<i>Pictograma</i>	<i>Frases H</i>	<i>Frases P</i>
Solución alcohólica	70 %		<ul style="list-style-type: none">° Nocivo en caso de ingestión o contacto con la piel.° Provoca irritación.° Puede intensificar el fuego; oxidante	<ul style="list-style-type: none">° En caso de contacto con los ojos, enjuague cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quítese las lentes de contacto, si están presentes y son fáciles de hacer. Continuar enjuagando.
Agua destilada	-	No aplica	No aplica	No aplica



Lavado de materia prima:

<i>Sustancia</i>	<i>Concentración</i>	<i>Pictograma</i>	<i>Frases H</i>	<i>Frases P</i>
Agua de grifo	-	No aplica	No aplica	No aplica
Solución de detergente	-	No aplica	No aplica	No aplica
Hipoclorito de sodio	10 %		<ul style="list-style-type: none">° Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares.° Muy tóxico para la vida acuática con efectos de larga duración.	<ul style="list-style-type: none">° Usar guantes protectores / ropa protectora / protección ocular / protección facial.° Evitar la liberación al medio ambiente.

Cultivo de microorganismos:

<i>Sustancia</i>	<i>Concentración</i>	<i>Pictograma</i>	<i>Frases H</i>	<i>Frases P</i>
Agua destilada	-	No presenta	No presenta	No presenta
Agar-agar	sólido	No presenta	No presenta	No presenta
TSB	sólido	No presenta	No presenta	No presenta
Alcohol	70 %		<ul style="list-style-type: none"> ° Nocivo en caso de ingestión o contacto con la piel. ° Provoca irritación. ° Puede intensificar el fuego; oxidante 	<ul style="list-style-type: none"> ° En caso de contacto con los ojos, enjuague cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quítese las lentes de contacto, si están presentes y son fáciles de hacer. Continuar enjuagando.


Identificación de pigmentos:

<i>Sustancia</i>	<i>Concentración</i>	<i>Pictograma</i>	<i>Frases H</i>	<i>Frases P</i>
Propanona	100 %		<ul style="list-style-type: none"> ° Nocivo en caso de ingestión o contacto con la piel. ° Provoca irritación. ° Puede intensificar el fuego; oxidante 	<ul style="list-style-type: none"> ° En caso de contacto con los ojos, enjuague cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quítese las lentes de contacto, si están presentes y son fáciles de hacer. Continuar enjuagando.
Agua destilada	-	No aplica	No aplica	No aplica
Éter de petróleo	30 - 65 °C		<ul style="list-style-type: none"> ° Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares. ° Muy tóxico para la vida acuática con efectos de larga duración. ° Provoca daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas por ingestión. 	<ul style="list-style-type: none"> ° Evitar la liberación al medio ambiente. ° Usar guantes protectores / ropa protectora / protección ocular / protección facial. ° En caso de contacto con la piel, Lavar con abundante agua y jabón.

Concentración de betacaroteno:

<i>Sustancia</i>	<i>Concentración</i>	<i>Pictograma</i>	<i>Frases H</i>	<i>Frases P</i>
Propanona	100 %		<ul style="list-style-type: none"> ° Nocivo en caso de ingestión o contacto con la piel. ° Provoca irritación. ° Puede intensificar el fuego; oxidante 	<ul style="list-style-type: none"> ° En caso de contacto con los ojos, enjuague cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quítese las lentes de contacto, si están presentes y son fáciles de hacer. Continuar enjuagando.
Etanol	95 %		<ul style="list-style-type: none"> ° Nocivo en caso de ingestión o contacto con la piel. ° Provoca irritación. ° Puede intensificar el fuego; oxidante 	<ul style="list-style-type: none"> ° En caso de contacto con los ojos, enjuague cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quítese las lentes de contacto, si están presentes y son fáciles de hacer. Continuar enjuagando.
Agua destilada	-	No aplica	No aplica	No aplica
Hexano			<ul style="list-style-type: none"> ° Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares. ° Muy tóxico para la vida acuática con efectos de larga duración. ° Provoca daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas por ingestión. 	<ul style="list-style-type: none"> ° Evitar la liberación al medio ambiente. ° Usar guantes protectores / ropa protectora / protección ocular / protección facial. ° En caso de contacto con la piel, Lavar con abundante agua y jabón.

Concentración de clorofila A, B y totales:

<i>Sustancia</i>	<i>Concentración</i>	<i>Pictograma</i>	<i>Frases H</i>	<i>Frases P</i>
Propanona	80 %		° Nocivo en caso de ingestión o contacto con la piel. ° Provoca irritación. ° Puede intensificar el fuego; oxidante	° En caso de contacto con los ojos, enjuague cuidadosamente con agua durante varios minutos. ° ° Quítese las lentes de contacto, si están presentes y son fáciles de hacer. Continuar enjuagando.

10.2 Cálculos

10.2.1 Betacaroteno

Absorbancias obtenidas durante la práctica:

	Palta verde	Palta semi-madura	Palta madura
	0,122	0,143	0,075
	0,129	0,120	0,052
	0,133	0,121	0,110
	0,140	0,148	0,095
	0,140	0,127	0,114
Promedio	0.1328	0,1318	0,089

Para la determinación de la concentración de betacaroteno, se utilizó la siguiente ecuación:

$$\mu\text{g de } \beta\text{-caroteno}/100 \text{ g} = \frac{A \times V \times 10^6}{Co \times 100 \times m \text{ (g)}}$$

Donde: A = Absorbancia de la muestra

V = mL del extracto

Co = Coeficiente de absortividad molar del β -caroteno (2500)

m = masa de la muestra en gramos

➤ Concentración de β -caroteno en palta verde:

$$\frac{0.1328 \times 18 \text{ mL} \times 10^6}{2500 \times 100 \times 2,08 \text{ g}} = 45,96923077 \mu\text{g de } \beta\text{-caroteno}/100 \text{ g}$$

➤ Concentración de β -caroteno en palta semi-madura:

$$\frac{0,1318 \times 18 \text{ mL} \times 10^6}{2500 \times 100 \times 2,02 \text{ g}} = 46,97821782 \text{ } \mu\text{g de } \beta\text{-caroteno}/100 \text{ g}$$

➤ Concentración de β -caroteno en palta madura:

$$\frac{0,089 \times 18 \text{ mL} \times 10^6}{2500 \times 100 \times 2,02 \text{ g}} = 31,72277228 \text{ } \mu\text{g de } \beta\text{-caroteno}/100 \text{ g}$$

Para la determinación de la incertidumbre de la concentración, se utilizó el método de la desviación estándar, el cual se realiza siguiendo la ecuación:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_i^N (X_i - \bar{X})^2}{N}}$$

Criterio establecido para la expresión de resultados: **dos** cifras significativas.

➤ Desviación estándar para concentración en palta verde:

$$S = 0,006852736$$

Expresión final de concentración de β -caroteno en palta verde: **(45,9692 ± 0,0069) $\mu\text{g}/100 \text{ g}$**

➤ Desviación estándar para concentración en palta semi-madura:

$$S = 0,01154816$$

Expresión final de concentración de β -caroteno en palta semi-madura: **(46,978 ± 0,012) $\mu\text{g}/100 \text{ g}$**

➤ Desviación estándar para concentración en palta madura:

$$S = 0,023047776$$

Expresión final de concentración de β -caroteno en palta madura: **(31,723 ± 0,023) $\mu\text{g}/100 \text{ g}$**

10.2.2 Clorofilas A y B

Absorbancias obtenidas durante la práctica:

	663 nm	645 nm
Palta verde	0,037	0,021
Palta semi-madura	0,023	0,039
Palta madura	0,012	0,050

Para la determinación de la concentración de clorofila A, se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{mg/g clorofila A} = (12,7 \times \text{Abs } 663 \text{ nm}) - (2,69 \times \text{Abs } 645 \text{ nm})$$

Para la determinación de la concentración de clorofila B, se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{mg/g clorofila B} = (22,9 \times \text{Abs } 645 \text{ nm}) - (4,68 \times \text{Abs } 663 \text{ nm})$$

➤ Concentración de clorofila A en palta **verde**:
(12,7 x 0,037) - (2,69 x 0,021) = 0,41341 mg/g

➤ Concentración de clorofila B en palta **verde**:
(22,9 x 0,021) - (4,68 x 0,037) = 0,30774 mg/g

➤ Concentración de clorofila A en palta **semi-madura**:
(12,7 x 0,023) - (2,69 x 0,039) = 0,18719 mg/g

➤ Concentración de clorofila B en palta **semi-madura**:
(22,9 x 0,039) - (4,68 x 0,023) = 0,78546 mg/g

➤ Concentración de clorofila A en palta **madura**:
(12,7 x 0,012) - (2,69 x 0,050) = 0,0179 mg/g

➤ Concentración de clorofila B en palta **madura**:
(22,9 x 0,050) - (4,68 x 0,012) = 1,08884 mg/g

10.2.3 Conversiones de unidades

Para poder comparar los resultados obtenidos de las concentraciones de betacaroteno, clorofila a y clorofila b, se debió realizar la conversión de la concentración de betacaroteno. Dicha conversión consistió en pasar de µg/100 g a mg/g.

➤ **Palta verde:**

Concentración de betacaroteno = 45,9692 µg/100 g.

$$\begin{array}{r} 1 \text{ mg} \text{ ----- } 1000 \text{ } \mu\text{g} \\ \times \text{ ----- } 45,9691 \text{ } \mu\text{g} \\ x = \frac{1 \text{ mg} \times 45,9691 \mu\text{g}}{1000 \text{ } \mu\text{g}} = 0,045962 \text{ mg/ } 100 \text{ g} \end{array}$$

$$\begin{array}{r} 0,045962 \text{ mg} \text{ ----- } 100 \text{ g} \\ \times \text{ ----- } 1 \text{ g} \\ x = \frac{0,045962 \text{ mg} \times 1 \text{ g}}{100 \text{ g}} = \mathbf{0,00045962 \text{ mg/ g}} \end{array}$$

➤ **Palta semi-madura**

Concentración de betacaroteno = 46,978 µg/ 100 g.

$$\begin{array}{r} 1 \text{ mg} \text{ ----- } 1000 \text{ } \mu\text{g} \\ \times \text{ ----- } 46,978 \text{ } \mu\text{g} \\ x = \frac{1 \text{ mg} \times 46,978 \text{ } \mu\text{g}}{1000 \text{ } \mu\text{g}} = 0,046978 \text{ mg/ } 100 \text{ g.} \end{array}$$

$$\begin{array}{r} 0,04978 \text{ mg} \text{ ----- } 100 \text{ g} \\ \times \text{ ----- } 1 \text{ g} \\ x = \frac{0,04978 \text{ mg} \times 1 \text{ g}}{100 \text{ g}} = \mathbf{0,00046978 \text{ mg/ g}} \end{array}$$

➤ **Palta madura**

Concentración de betacaroteno = 31,723 µg/100 g.

$$\begin{array}{r} 1 \text{ mg} \text{ ----- } 1000 \text{ } \mu\text{g} \\ \times \text{ ----- } 31,723 \text{ } \mu\text{g} \\ \hline x = \frac{1 \text{ mg} \times 31,723 \text{ } \mu\text{g}}{1000 \text{ } \mu\text{g}} = 0,031723 \text{ mg/ } 100 \text{ g} \end{array}$$

$$\begin{array}{r} 0,31723 \text{ mg} \text{ ----- } 100 \text{ g} \\ \times \text{ ----- } 1 \text{ g} \\ \hline x = \frac{0,031723 \text{ mg} \times 1 \text{ g}}{100 \text{ g}} = \mathbf{0,00031723 \text{ mg /g}} \end{array}$$