

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

**Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la
Producción**

“Elaboración de un condimento para carnes a partir de las hojas deshidratadas de *Mansoa alliacea* de origen ecuatoriano (Ajo sachá) con actividad antioxidante”.

TESIS DE GRADO

Previo a la obtención del Título de:

INGENIERA EN ALIMENTOS

Presentada por:

Verónica Estefanía Monserrate Maggi

GUAYAQUIL-ECUADOR

Año: 2014

AGRADECIMIENTO

Primero a Dios por permitirme culminar una meta importante en mi vida, a mis padres Bertha Maggi y Juan Monserrate por su apoyo incondicional, a mis hermanos Lorena y Juan, familia en general que siempre han demostrado su amor en todas los momentos de mi vida. A mi tutora PhD. Migdalia Miranda por la confianza y paciencia que me tuvo durante el desarrollo de este proyecto, a todos los integrantes del laboratorio de Bioproductos y todo el personal del CIBE, también a Qf. Tulio Orellana.

Finalmente a Luisito, Davicito, María Andrea, Carlita, Adris, Juan Diego, Alancito, David, a los FUSILEROS.

DEDICATORIA

A mi mami por ser el pilar de apoyo, amor y confianza, que me ha demostrado durante toda su vida que con honestidad, sacrificio y amor a Jehová nada es inalcanzable.

A mi papi por su ternura y sobretodo su gran paciencia, por enseñarme que con una o varias sonrisas sinceras se calma todos los ánimos encendidos, y por ser “la mas bonita del mundo ante sus ojos y seguir teniendo dos añitos”.

A mi hermana Lorena por sus sabios consejos, a mi lindo hermano Juanito que es la palabra apoyo hecha persona.

No podría faltar mis primos Andreita y Antonie que son como dos hermanos más y mi tía Gladys, mí mama en Guayaquil, que siempre me han hecho sentir el amor de familia y al resto de mi familia.

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

Dr. Kléber Barcia V.
DECANO DE LA FIMCP
PRESIDENTE

Migdalia Miranda M., Ph.D.
DIRECTORA DE TESIS

M.Sc. Patricia Manzano S., Ph.D
VOCAL

DECLARACIÓN EXPRESA

"La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL".

(Reglamento de Graduación de la Espol)

Verónica Estefanía Monserrate Maggi

RESUMEN

El ajo sachá o *Mansoa alliacea* es una especie de origen ecuatoriano, la cual tiene un cotidiano en el ámbito medicinal y culinario en las tribus amazónicas, pero su uso es poco común en el resto del país. Es por ello que la finalidad de este trabajo de investigación fue elaborar un condimento para carnes a partir de hojas deshidratadas de *Mansoa alliacea*, buscando además en éste una cualidad como agente antioxidante.

La planta es común en zonas tropicales con precipitación pluvial de 1 800 a 3 500 mm/año, temperaturas entre 20 a 26° C, contiene algunos componentes sulfurados, derivados del lapacho, pigmentos flavónicos y saponinas, como compuestos no azufrados, se ha encontrado también la presencia de las vitaminas E y C y de los minerales selenio y cromo.

Las hojas del ajo sachá fueron recolectadas en la provincia de Pastaza, posteriormente fueron secadas por diferentes métodos, al ambiente a una temperatura promedio de 29°C durante 14 días, hasta que el peso fuese constante y en la estufa VWR oven 1675 de recirculación de aire, durante 24 horas a una temperatura de 45°C.

A los dos grupos de hojas se le realizaron análisis físico-químicos entre los cuales se citan: cenizas totales, cenizas solubles en agua, cenizas insolubles

en ácido clorhídrico al 10%, humedad residual, sustancias solubles y tamizare fotoquímica, donde se encontró la presencia de aceites esenciales, alcaloides, esteroides, Catequinas, saponinas, compuestos reductores y Flavonoides. También se midió la capacidad antioxidante.

Luego de determinar los análisis ya mencionados se elaboró el condimento con las siguientes características, polvo heterogéneo, color verde 2,5 GY 7/4 según Munsell, y granulometría de 60 mesh o 0,250 mm, con aroma y sabor a ajo.

Se utilizaron las hojas secadas al ambiente por su mayor capacidad antioxidante (86,33%), que presentaban 5,83% de humedad y 16,4% de sustancia solubles; estos porcentajes fueron menores en comparación a las hojas secadas en la estufa, debido a que el tiempo dentro de la misma fue insuficiente, en las cenizas totales el porcentaje fue 5,33%, en las cenizas solubles en agua fue 1,37% y cenizas insolubles en ácidos clorhídrico 1,48%, estos tres últimos parámetros no presentaron diferencias estadísticamente significativa entre el método de secado en estufa y al ambiente.

La actividad de agua del condimento fue de 0,6aw generando condiciones extremas para el crecimiento de microorganismos patógenos que afecten la inocuidad del producto, esto fue comprobado con el kidRIDA®COUNT Totalaerobic y kidRIDA®COUNT coliform cuyos resultados reportaron

crecimiento de colonias menor a 10^1 . También hubo la ausencia absoluta de metales pesados plomo, cadmio, arsénico y mercurio.

En las pruebas de evaluación sensorial del 100% (38 personas) de los catadores, el 50% (19 personas) eligió como favorita la carne condimentada con ajo sachá, el 45% (17 personas) seleccionó el ajo en polvo tradicional y el 5% (2 personas) no encontraron diferencia entre las dos muestras.

Los resultados de los análisis realizados en esta tesis, se encontraron dentro de los parámetros establecidos por la norma NTE INEN 2 532:2010 de Especies y Condimentos, y se obtuvo una respuesta positiva en las pruebas sensoriales, generando las condiciones óptimas para la elaboración del condimento.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	I
ÍNDICE GENERAL.....	IV
ABREVIATURAS.....	VII
SIMBOLOGÍA	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
ÍNDICE DE TABLAS.....	XI
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1	3
1. MARCO TEÓRICO	3
1.1. <i>Mansoa alliacea</i> (Ajo de Silvestre), Generalidades	3
1.1.1. Descripción general de la planta	3
1.1.2. Taxonomía de la <i>Mansoa alliacea</i> (Ajo de Silvestre)	5
1.1.3. Distribución Geográfica-Ecológica	6
1.1.4. Composición química y propiedades biológicas	7
1.1.5. Ingredientes funcionales de <i>Mansoa Alliacea</i>	7
1.2. Aplicación de <i>Mansoa alliacea</i>	13
1.2.1. Uso medicinal en las tribus amazónicas.....	13
1.2.2. Uso culinario	15
1.2.3. Otros usos en las tribus amazónicas.....	17
1.3. Olor a Ajo.....	18
CAPÍTULO 2	21
2. METODOLOGÍA	21
2.1. Diseño experimental	21
2.1.1. Definición de la hipótesis	21
2.1.2. Definición de las variables experimentales.....	21
2.2. Análisis Físico Químico de la Materia Prima	22

2.2.1.	Determinación de cenizas totales.....	25
2.2.2.	Determinación de cenizas solubles en agua	26
2.2.3.	Determinación de cenizas insolubles en ácido	28
2.2.4.	Determinación del contenido de humedad	29
2.2.5.	Determinación de Sustancias solubles.....	30
2.2.6.	Tamizaje fitoquímico	31
2.3.	Determinación de la actividad antioxidante	35
2.4.	Elaboración del diagrama de flujo del condimento	37
2.5.	Análisis del condimento.....	41
2.5.1.	Análisis Físico Químico	41
2.5.1.1	Determinación de humedad del condimento.....	41
2.5.1.2	Determinación de actividad de agua.....	41
2.5.1.3	Determinación de concentración de Plomo	43
2.5.1.4	Determinación de concentración de Arsénico.....	46
2.5.2.	Análisis Microbiológicos	47
2.5.3.	Análisis Sensorial.....	49
CAPÍTULO 3		52
3.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	52
3.1.	Análisis Físico Químico de la Materia Prima	53
3.2.	Actividad Antioxidante	64
3.3.	Características del condimento	65
3.3.1.	Características organolépticas	65
3.3.2.	Características Físico Químico	66
3.3.3.	Características microbiológicas.....	68
3.3.4.	Análisis sensorial	69
CAPÍTULO 4		71
4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	71

APÉNDICES

ANEXO

BIBLIOGRAFÍA

ABREVIATURAS

Aw	Actividad de agua
cc	Centímetro cubico
cm	Centímetro
g	Gramo
GY	Green-Yellow
h	Hora
<i>M</i>	<i>Mansoa</i>
L	Litro
mg	Miligramo
min	Minuto
ml	Mililitro
mm	Milímetro
nm	Nanómetro
M.P	Materia Prima
Temp.	Temperatura
UV	Ultra Violeta
ERO	Especies reactivas de oxígeno
INEN	Instituto Ecuatoriano de Normalización
NTE	Normas Técnicas

SIMBOLOGÍA

° C	Grados Celsius
CM	Media Cuadrática
CV	Coefficiente de variación
DS	Desviación Estandar
F	F calculado
F.V	Fuente de Variación
gl	Grados de libertad
Ho	Hipótesis nula
Hi	Hipótesis alterna
P	Valor P
S.C	Suma de Cuadrados
μ	Media aritmética
%	Porcentaje

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 <i>Mansoa alliacea</i> hembra (bejuco)	4
Figura 1.2 <i>Mansoa alliacea</i> macho (árbol pequeño)	4
Figura 1.3 Inflorescencia <i>Mansoa alliacea</i>	5
Figura 1.4 Reacción de formación de alicina	8
Figura 1.5 Alfa-tocoferol (Vitamina E)	9
Figura 1.6 Ácido L-ascórbico (Vitamina C)	10
Figura 1.7 Distribución de las plantas más utilizadas por las personas encuestadas en las comunidades aledañas a la Facultad de Farmacia y Bioquímica en Nina Rumi.	15
Figura 1.8 Número de especies utilizadas como aditivos en la alimentación del Ecuador.	16
Figura 2.1 Secado al ambiente de <i>Mansoa alliacea</i>	23
Figura 2.2 Secado en estufa de recirculación de aire de <i>Mansoa alliacea</i>	24
Figura 2.3 Extracción sucesiva de la materia prima para la aplicación de técnicas de Tamizaje Fitoquímico	32
Figura 2.4 Esquema de las reacciones a realizar en el extracto de éter etílico	33
Figura 2.5 Esquema de las reacciones a realizar en el extracto alcohólico	34
Figura 2.6 Esquema de las reacciones a realizar en el extracto acuoso.	35
Figura 2.7 Diagrama de flujo de la elaboración del condimento	37
Figura 2.8. Recepción de <i>Mansoa alliacea</i>	38
Figura 2.9 Selección de las hojas de <i>Mansoa alliacea</i>	38
Figura 2.10 Limpieza de <i>Mansoa alliacea</i>	39
Figura 2.11 Secado al ambiente de <i>Mansoa alliacea</i>	39
Figura 2.12 Trituración de las hojas de <i>Mansoa alliacea</i>	40
Figura 2.13 Tamiz No. 60 - 60 Mesh - 0.250 mm	40
Figura 2.14 Producto sin tamizar y tamizado	40
Figura 2.15 Producto final condimento	41

Figura 2.16 Medidor de Aw Aqua Lab	42
Figura 2.17 Muestras del Condimento y Medidor de Aw Aqua Lab	42
Figura 2.18 Kid RIDA@COUNT Total.....	48
Figura 2.19 Kid RIDA@COUNT Total inoculado	48
Figura 2.20 Kid RIDA@COUNT Coliform	49
Figura 2.21 Kid RIDA@COUNT Coliform inoculado.....	49
Figura 2.22 Prueba de Preferencia Pareada	50
Figura 3.1 Histograma de frecuencia del largo de las hojas de <i>Mansoa alliacea</i>	52
Figura 3.2 Histograma de frecuencia del ancho de las hojas de <i>Mansoa alliacea</i>	53
Figura 3.3 Pérdida de peso y error estándar	55
Figura 3.4 Cenizas torales y error estándar	57
Figura 3.5 Cenizas solubles en agua y error estándar	58
Figura 3.6 Cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10 %	59
Figura 3.7 Sustancia solubles y error estándar.....	60
Figura 3.8 Actividad antioxidante de los extractos de las plantas secadas por diferentes métodos	65
Figura 3.9 Actividad de agua y error estándar	67
Figura 3.10 Evaluación sensorial del condimento de ajo sachá.	69
Figura 3.11 Porcentaje de aceptación entre el ajo en polvo y el ajo sachá.	69

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Mansoa alliacea</i>	5
Tabla 2. Funciones de la Vitamina C	11
Tabla 3. Lista de especies principales con olor a ajo reconocido	20
Tabla 4. Parámetros instrumentales para la determinación de Pb y Cd.	45
Tabla 5. Parámetros instrumentales para la determinación de As y Hg.	46
Tabla 6. Crecimiento de microorganismos según el nivel de Actividad de agua (Aw).	47
Tabla 7. Resultados de los análisis Físico Químico de <i>Mansoa alliacea</i>	54
Tabla 8. Tamizaje Fitoquímico del Extracto Etéreo	61
Tabla 9. Tamizaje Fitoquímico del Extracto Alcohólico	62
Tabla 10. Tamizaje Fitoquímico del Extracto Acuoso	63
Tabla 11. Resultados de los análisis físico-químicos	66
Tabla 12. Reporte del crecimiento de colonias.	68

INTRODUCCIÓN

La industria alimenticia ha evolucionado conforme han ido avanzando las técnicas culinarias, su crecimiento ha sido importante, surgiendo nuevos platos más elaborados, creando y empleando nuevos condimentos, para mejorar el sabor del menú tradicional, además de aportarle valor nutricional según los componentes que se utilicen.

Además de desarrollar nuevos alimentos y condimentos, se hace importante que éstos sean nutritivos y saludables, ya que muchas enfermedades son producto de una alimentación inadecuada que provoca un desbalance del equilibrio REDOX del organismo [1,3]. Hace aproximadamente 45 años, surgió un marcado interés por los estudios acerca de los radicales libres, por parte de los laboratorios de investigación y por la búsqueda de extractos vegetales con actividad antioxidante de carácter endógeno que pudieran ayudar al organismo a combatir el estrés oxidativo de carácter fisiológico, ocasionado por los estilos de vida actuales[1,2].

El grupo de investigadores del laboratorio de Bioproductos del CIBE-ESPOL, desde el año 2009 ha realizado diversas investigaciones orientadas a validar el uso ancestral de alrededor de 20 especies vegetales, una de ellas es el caso de *Mansoa alliacea*, sin embargo, no se encontraron referencias sobre

su uso como aditivo en alimentos y/o su capacidad como antioxidante (3). Es por ello que en este trabajo se proponen los siguientes objetivos.

Objetivo General

- Elaborar un condimento para carnes a partir de hojas deshidratadas de *Mansoa alliacea* de origen ecuatoriano (Ajo sachá) con actividad antioxidante.

Objetivos específicos

- Conocer la concentración de compuestos antioxidantes presentes en los extractos de las hojas del ajo sachá sometidas a diferentes métodos de secado
- Analizar la variabilidad de los parámetros físico-químico que presentan las hojas del ajo sachá sometidas a dos diferentes tipos de secado.
- Elaborar un condimento para carnes a partir de hojas de *Mansoa alliacea* con actividad antioxidante que cumpla parámetros de calidad e inocuidad.
- Medir la aceptación del condimento en los consumidores mediante análisis sensorial.

CAPÍTULO 1

1. MARCO TEÓRICO

1.1. *Mansoa alliacea* (Ajo de Silvestre), Generalidades

1.1.1. Descripción general de la planta

Mansoa alliacea (Lam).A.H. Gentry conocido también por los sinónimos *Bignonia alliacea* Lam, *Pseudocalymma alliacea* (Lam.) Sandwith y *Pachyptera alliacea* (Lam.) AH Gentry. Es comúnmente llamada ajo silvestre, ajo de monte, cipó-de-Alho, cipo-d'alho, cipo-alho y alho-da-mata (Brasil), bejuco de ajo (Venezuela), arbusto de ajo (Inglaterra), liana à l'todos (Francia), ajo enredadera (India), vid ajo (EE.UU.), ajo de monte, ajo sachá (Perú), que significa ajo falso, en referencia al penetrante olor a ajo de las hojas cuando se aplastan (4); es muy utilizado en la comunidad amazónica por sus propiedades medicinales y organolépticas y contiene compuestos como esteroides (estigmasterol), alcaloides, saponinas y pigmentos flavónicos (5).

Existen dos clases, el ajo macho que es un árbol pequeño y el ajo hembra que es un bejuco (6). Como se muestra en las Figura 1.1.



Figura 1.1 *Mansoa alliacea* hembra (bejuco)
Fuente: Estación Pindo Mirador

El ajo macho (figura 1.2), objeto de estudio en esta tesis es un arbusto semitrepador de 3 m de altura o más, partes vegetativas con olor a ajo o cebolla, pseudo estípulas pequeñas, aplanadas y cónicas. Hojas bifolioladas con zarcillo trífido, folíolos abovados a elípticos de 5-27 x 2-18 cm, de ápice agudo a obtuso y base cuneada (7).



Figura 1.2 *Mansoa alliacea* macho (árbol pequeño)
Fuente: Estación Pindo Mirador

Las inflorescencias son axiales y se presentan en racimos, la corola es tubular acampanada de 6 a 9 cm de largo, color violeta, cáliz cupular de 5 cm x 6 mm. Su fruto es en forma de cápsula lineal de superficie lisa (8). Figura 1.3



Figura 1.3 Inflorescencia *Mansoa alliacea*

Fuente: Rainfotrest

1.1.2. Taxonomía de la *Mansoa alliacea* (Ajo de Silvestre)

En la Tabla 1 se presenta la clasificación taxonómica de *Mansoa alliacea* (Ajo de Monte)

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Mansoa alliacea*

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
Clase	Equisetopsida C. Agardh
Subclase	Magnoliidae Novák ex Takht.
Superorden	Asteranae Takht.
Orden	Lamiales Bromhead
Familia	Bignoniaceae Juss.
Genero	<i>Mansoa</i> DC.
Especie	<i>Mansoa alliacea</i> (Lam.) A.H. Gentry

Fuente: Missouri Botanical Garden (9)

1.1.3. Distribución Geográfica-Ecológica

El crecimiento del ajo sachá es común en zonas tropicales con precipitación pluvial de 1 800 a 3 500 mm/año, temperaturas entre 20 a 26° C y en suelos arenoso o arcilloso con abundante materia orgánica. Su área de distribución se extiende desde México a Perú incluyendo toda Centroamérica, fundamentalmente en bosques primarios o poco antropizado (10).

M. alliacea crece en tierra firme, no está cerca de cuerpos de agua, en zonas de sombra de la vegetación baja y en pequeños bosques primarios. No puede crecer en zonas inundadas o en campos abiertos (4). Comparte su hábitat con las siguientes especies: aguaje, algodón, bijao, caña agria, carahuasca, castaña, cedro, cetico, cordoncillo, charichuelo, chiricsanango, chuchuhuasi, espintana, huacapú, huamansamana, huitó, limón, patiquina, pijuayo, poma rosa, pona, sangre de grado, sapohuasca, shapaja, ubos, umarí, uña de gato, uvilla, yarina y zapote. Tiene como enemigos naturales al curuhince (hormiga del género *Atta*), los hongos (*Cercospora figiensis*) y ciertas arañas (11).

1.1.4. Composición química y propiedades biológicas

El ajo *sacha* contiene alcanos alcaloides, alidil-sulfóxido, alildinilfóxido, disulfuropropilalilo sulfuro de dialil, sulfuro de dimetilo, sulfuro de divinilo, allíina, alicina, allina, isotiocianatos, iridoides, naftoquinonas citotóxicas (9-metoxi-lapachona y la 4-hidroxi-9-metoxi-lapachona), derivadas del lapachol, pigmentos flavónicos y saponinas, como compuestos no azufrados (11). También se ha encontrado la presencia de las vitaminas E y C y de los minerales selenio y cromo (12). Las propiedades antiinflamatorias y antibacterianas de *M. alliacea* se han atribuido a los n-alcanos C₂₉, C₃₁ y C₃₃, al estigmasterol, al beta-sitosterol, al daucosterol y al fucosterol (4).

1.1.5. Ingredientes funcionales de *Mansoa Alliacea*

Aliina o sulfóxido de S-alil-cisteína (aminoácido azufrado)

En el ajo *sacha*, el principio activo es la aliina que es la que genera la alicina que comprende la parte funcional más importante de los productos aliáceos.

La aliina es una sustancia inodora e inestable, a bajas temperaturas se mantiene inalterable, mientras que la planta o bulbo que la contenga si es machacado o triturado, se transforma en alicina y otros compuestos azufrados

(tiosulfatos), por la acción de la enzima aliinasa. Figura 1.4. Estos últimos son muy inestables y se transforman con extrema rapidez en otros compuestos órgano sulfurados: sulfuro de dialilo, disulfuro de dialilo (mayoritario en la esencia de ajo), trisulfuro de dialilo y ajoenos, todos ellos solubles en medio oleoso. Se considera que 1 mg de aliina equivale a 0,45 mg de alicina (13).



Figura 1.4 Reacción de formación de alicina
Fuente: Revista de Fitoterapia

Vitamina E (tocoferol)

Una de las funciones más importantes atribuidas a la vitamina E es su acción antioxidante, se encuentra en una gran variedad de alimentos y es una de las vitaminas de más amplia distribución. Sus fuentes fundamentales son los aceites de soja, maní, algodón y girasol, la mantequilla, el huevo y los guisantes secos. Los chícharos, garbanzos, las lentejas y los cereales como el trigo, la avena y el arroz integral.

La vitamina E agrupa diferentes compuestos, dentro de los cuales se incluyen los tocoferoles y los tocotrienoles. El más importante en la especie humana es el RRR- α -tocoferol. Consta de 2 partes principales: un anillo complejo cromano y una larga cadena lateral. Figura 1.5 (14).

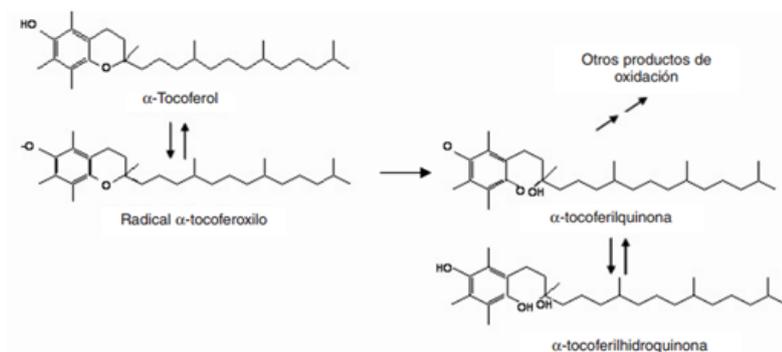


Figura 1.5 Alfa-tocoferol (Vitamina E)

Fuente: A. Sayoga *et, al*, 2007

La reactividad de la vitamina E con los radicales orgánicos peroxilos se asocia con las propiedades redox del anillo cromano y es la responsable de su capacidad antioxidante. La vitamina funciona “*in vivo*” como un antioxidante que protege a los lípidos tisulares del ataque por los radicales libres (15).

Vitamina C

El ácido L-ascórbico (Vitamina C) (E300), es una vitamina hidrosoluble derivada del metabolismo de la glucosa. Se encuentra en todos los tejidos vivos como un importante

compuesto redox del metabolismo celular, un eliminador de los radicales libres y antioxidantes. Fuentes importantes de la vitamina C son las frutas frescas (cítricos, uvas negras, pimiento rojo) y vegetales (papas, lechuga, tomates etc.). Figura1.6. (16).

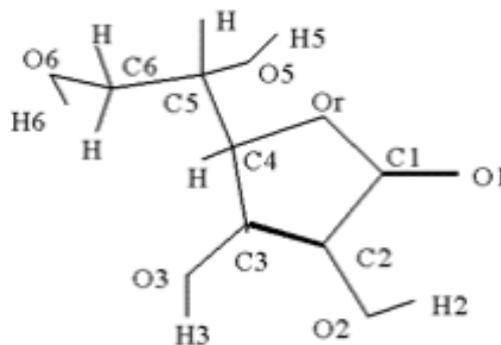


Figura1. 6 Ácido L-ascórbico (Vitamina C)
Fuente: F. Valdés, 2006

Las dosis diarias recomendadas de ácido ascórbico son de 75 mg/día (mujeres) y 90 mg/día (varones). Disponemos entre 1,2-2 g de ácido ascórbico en todo el organismo y su vida media oscila entre los 10 y 20 días.

El cuerpo humano genera radicales libres como consecuencia de procesos endógenos como la respiración celular, la fagocitosis, la apoptosis, la coagulación o el metabolismo del O_2 o exógenos como el ejercicio, la dieta, la radiación UV, la polución o el consumo de cigarrillos. A nivel molecular la vitamina C actúa como basurero de las ERO (especies

reactivas de oxígeno) generadas, modula la expresión de genes previniendo el daño producido por las ERO, regula la diferenciación queratinocitarias manteniendo un estado equilibrado en las reacciones de oxidación-reducción y facilita la interrupción del ciclo celular y de la apoptosis en respuesta al daño causado en el ADN (16). Otras funciones se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Funciones de la Vitamina C

FUNCIONES	<ul style="list-style-type: none"> - Hidroxilación de lisina y proteína - Prevención de la oxidación de las LDL - Síntesis de catecolaminas - Participación en el metabolismo del hierro - Conversión de ácido fólico en folínico - Participación en el metabolismo de la tirosina y en la neoglucogénesis - Protección de los PMN
	<p>LDL: Lipoproteínas de baja densidad PMN: polomorfocitocitos</p>

Fuente: F. Valdés, 2006

Selenio

El selenio es un micromineral antioxidante que previene las reacciones excesivas de oxidación, y su acción se relaciona con la actividad de la vitamina E. Este mineral protege contra

enfermedades cardiovasculares y estimula el sistema inmunológico. Al ser un antioxidante disminuye el proceso de envejecimiento celular y también se lo asocia a la prevención del cáncer. El selenio se encuentra naturalmente en alimentos de origen animal, frutos de mar, carnes, hígado, riñón, vegetales y cereales integrales (12).

Cromo

Este micromineral aparece en el cuerpo en cantidades muy pequeñas. Participa en el metabolismo del azúcar para la utilización normal de la glucosa y para el crecimiento. Su actividad se lleva a cabo conjuntamente con otras sustancias que controlan el metabolismo de la insulina y de varias enzimas, con la formación de ácidos grasos, colesterol y con el material genético de las células.

El cromo se encuentra en carnes y vísceras, en la levadura de cerveza y en los cereales integrales. Su carencia produce menor tolerancia a la glucosa bucal, neuropatía periférica, balance negativo de nitrógeno, menor cociente respiratorio y adelgazamiento.

A su vez puede ocasionar diabetes en edades adultas, enfermedades coronarias y retardos de crecimiento.

1.2. Aplicación de *Mansoa alliacea*

1.2.1. Uso medicinal en las tribus amazónicas

Mansoa alliacea o ajo sachá es conocida en la mayoría de la Amazonía, como medicina folklórica regional que está basada en el uso de plantas medicinales silvestres (17).

Las habitantes de las comunidades aprovechan casi en su totalidad la planta: sus hojas, flores, raíces y corteza, para usarla como:

- **Analgésico:** Utilizan las hojas en una infusión o las raíces maceradas para calmar los dolores de músculos, huesos, cabeza, abdomen, etc.
- **Antiartrítico:** Emplear las hojas en infusión o machacadas sobre la parte afectada o maceración en alcohol de tallos y raíces para aliviar el dolor, hinchazón, rigidez y dar calor local en las articulaciones. También se recomienda triturar los tallos y raíces frescas y se colocan en una botella de vidrio con aguardiente (cachaza o alcohol etílico al 80%), se deja macerar durante dos días y se filtra antes de ingerir para aliviar el dolor e inflamación de las articulaciones, músculos y tendones.

- Antiepiléptico: Utilizan la corteza del ajo sachá para evitar la gota coral y las convulsiones.
- Antipirético: Se emplean los tallos y hojas en decocción para baños corporales baja la fiebre y las calenturas.
- En cólico estomacal: La decocción de la corteza en agua, alivia los dolores estomacales agudos (bloquea las contracciones violentas del estómago y de los intestinos).
- En dolor de cabeza: Utilizan la hoja pulverizada mezclada con agua o con cachaza, tópicamente para alivia el dolor de cabeza.
- Como reconstituyente: Utilizan la decocción de las raíces y se consume por vía oral. Sirve como tónico o energizante corporal.
- También se informan usos en resfriados, neumonía, tos, náuseas y estreñimiento.

En un estudio realizado en Loreto, Perú en las comunidades amazónicas de Corrientillo, Puerto Almendra, Nina Rumi, Llanchama y Tarapoto, aledañas a la Facultad de Farmacia y Bioquímica en Nina Rumi, se encontró que el ajo sachá se ubica dentro de las 5 plantas más utilizadas por los habitantes para tratar sus diferentes dolencias (Figura 1.7) (18).

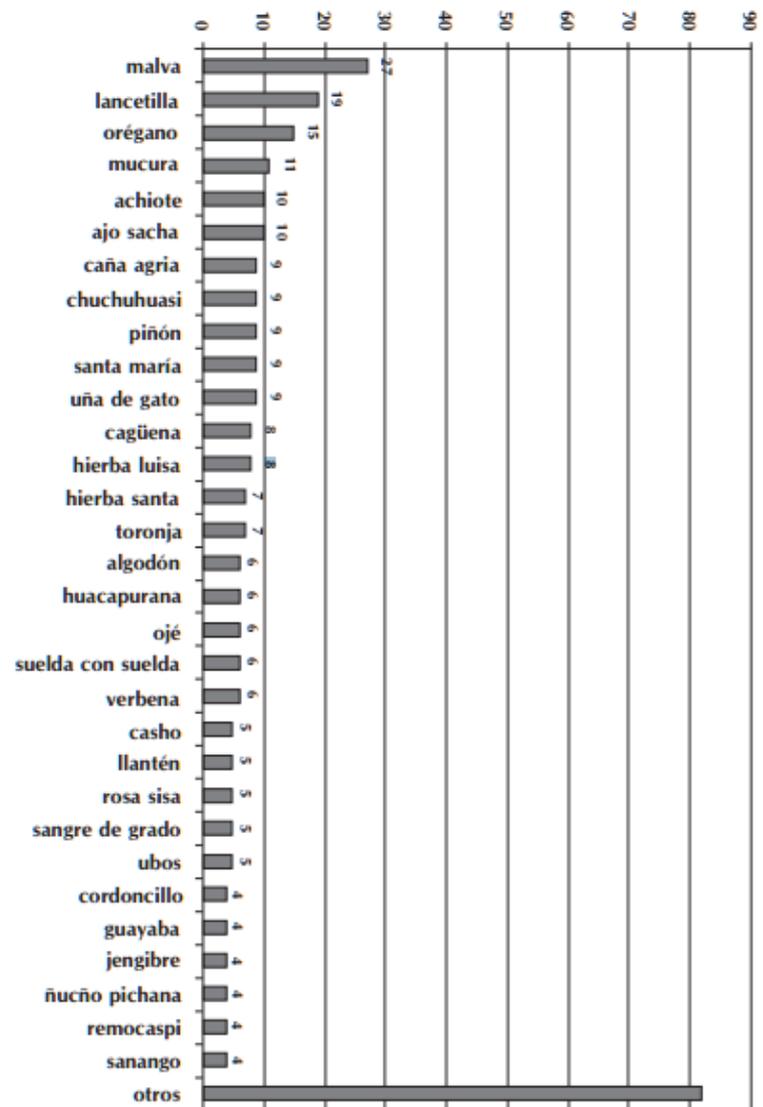


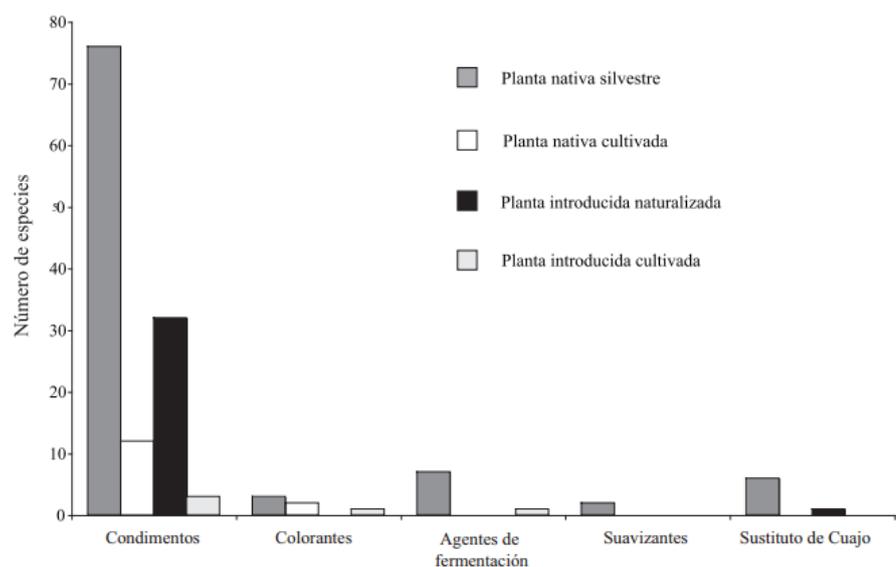
Figura 1.7 Distribución de las plantas más utilizadas por las personas encuestadas en las comunidades aledañas a la Facultad de Farmacia y Bioquímica en Nina Rumi.

Fuente: W. Gutiérrez *et, al*, 2010

1.2.2. Uso culinario

La mayoría de especies se utilizan como condimentos y saborizantes en la preparación de varias bebidas y comidas.

Muchas de las hierbas y condimentos que forman parte habitual de la alimentación en todas las regiones del Ecuador son especies introducidas, cultivadas y a veces comercializadas. Estas especies se añaden comúnmente en la preparación de distintos tipos de sopas y platos preparados con carne, pescado y verduras. El 45% de las especies que se utilizan como condimento son plantas nativas del Ecuador. Muchas de ellas son utilizadas por pueblos indígenas, tienen un uso local y suelen ser silvestres o manejadas (Figura 1.8) (10).



Número de especies utilizadas como aditivos en la alimentación del Ecuador. Las tres últimas categorías se agruparon en el apartado de especies para el procesamiento de alimentos.

Figura 1. 8 Número de especies utilizadas como aditivos en la alimentación del Ecuador.

Fuente: J. Sáez and J. P. Soto, 2010

Debido a su olor y sabor característico el ajo sachá se lo utiliza como un condimento de uso cotidiano por ejemplo, en las culturas Ecuatorianas los indígenas kichwa abundan en el uso de condimentos silvestres, entre los cuales los más reconocidos son *Mansoa standleyi* y *M. alliacea* (10).

1.2.3. Otros usos en las tribus amazónicas

Los habitantes de la Amazonia utilizan el ajo sachá como talismanes y en oraciones, esta a su vez, puede ser: supersticiosa, realista y mixta. También como ingredientes en pociones alucinógenas utilizadas por los shamanes en las ceremonias espirituales llamadas “ayahwasca” (19).

Los indígenas utilizan la planta en rituales mágicos o místicos para ahuyentar a los malos espíritus (20). En Surinam, un pedazo de tronco se mantiene en un vaso de agua y el agua se bebe en el último mes de embarazo para un parto saludable. También se utiliza la quema de las hojas para repeler los murciélagos y los insectos y la infusión de hojas en los rituales mágicos para limpiar y purificar (21).

Según creencias populares cura el susto limpia de daños o malos deseos. Se estruja con la mano hojas limpias frescas en

un recipiente con agua hasta obtener un jugo, se lo aplica a través de baños corporales y sin enjuagar (11).

1.3. Olor a Ajo

La importancia de estas plantas radica en su composición fitoquímica y las implicaciones farmacológicas o medicinales de sus metabolitos secundarios; pero también, desde un punto de vista de su ecología adaptativa, resulta de interés conocer por qué algunas especies adoptan olores o sabores tan característicos que únicamente puede ser explicados en base a mecanismos de defensa frente a ciertos predadores o, en su defecto, de atracción depolinizantes o dispersantes de sus semillas (10).

El olor es una propiedad intrínseca de la materia y se define como “la sensación resultante de la recepción de un estímulo por el sistema sensorial olfativo”. El término olor se refiere a una mezcla compleja de gases, vapores, y polvo, donde la composición de la mezcla influye directamente en el olor percibido por un mismo receptor (22).

En general, la mayor concentración del olor a ajo se encuentra en las raíces y hojas, aunque la concentración varía de unas especies a otras de la misma manera que la ubicación de los metabolitos secundarios responsables de estos olores (10).

El olor a ajo, como muchos otros olores fuertes, aparece en la naturaleza, particularmente en los vegetales, como un mecanismo de defensa generalmente para combatir a los predadores potenciales, creando una noción de 'toxicidad' mediante una composición fitoquímica concreta que los ahuyenta a la vez que supone un escaso gasto energético para la planta. Debido al olor a ajo de estos vegetales se ha creado un interés culinario para el consumo humano.

De hecho, se ha demostrado que la composición química de los metabolitos implicados en el sabor a ajo puede variar, en algunas especies, según la época del año, en directa relación con sus fitófagos predadores, o en su defecto se señala cierta variabilidad geográfica en la concentración de tales compuestos (17).

En la Familia Bignoniacea el fenómeno de olor a ajo se presenta en varias especies del género *Mansoa* particularmente en *M. Alliacea*, *M. hymenae* y *M. standleyi*, como se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Lista de especies principales con olor a ajo reconocido

Familia/Especie	Biotipo	Presencia de olor de ajo
Brassicaceae <i>Alliaria petiolata</i> (M.Bieb.) Cavara & Grande	Hierba	Toda la planta
<i>Thlaspi alliaceum</i> L.	Hierba	Hojas
Bignoniaceae <i>Mansoa alliacea</i> (Lam.) A.H.Gentry	Arbusto	Toda la planta
<i>Mansoa hymenae</i> (DC) A.H. Gentry	Arbusto	Toda la planta
<i>Mansoa standleyi</i> (Steyerm.) A.H. Gentry	Arbusto	Toda la planta
Boraginaceae <i>Cordia alliodora</i> (Ruiz & Pav.) Oken	Árbol	Hojas
Fabaceae <i>Leucaena esculenta</i> (Moc. Et Sess.) Benth	Árbol	Semillas
Meliaceae <i>Cedrela odorata</i> L.	Árbol	Flores
Liliaceae <i>Allium sativum</i> L. <i>Allium scorodoprasum</i> L. <i>Allium ursinum</i> L. <i>Allium victorialis</i> L. <i>Nothoscordum gracile</i> (Ait.) Stearn <i>Nothoscordum striatellum</i> (Lind.) Kunth <i>Tulbaghia violácea</i> Harv.	Hierba Hierba Hierba Hierba Hierba Hierba Hierba	Bulbo/tallo Bulbo/tallo Bulbo/tallo Bulbo/tallo Bulbo/tallo Bulbo/tallo Bulbo/tallo
<i>Leucocoryne alliacea</i> Miers. & Lindl.	Hierba	Toda la planta
Phytolaccaceae <i>Petiveria alliacea</i> L.	Hierba	Raíz/hojas
Plumbaginaceae <i>Armeria alliacea</i> (Cav.) Hoffmanns. & Link.	Hierba	Toda la planta

Fuente: Rainforest

CAPÍTULO 2

2. METODOLOGÍA

2.1. Diseño experimental

2.1.1. Definición de la hipótesis

Ho: El tipo de secado aplicado a las hojas de *Mansoa alliacea* afecta los parámetros físico químicos y las propiedades antioxidantes de la planta.

Hi: El tipo de secado aplicado a las hojas de *Mansoa alliacea* no afecta los parámetros físico químicos y las propiedades antioxidantes de la planta.

2.1.2. Definición de las variables experimentales

Las variables que se analizaron en el ajo sachá para conocer como afecta el tipo de secado a los parámetros físico químicos y a la capacidad antioxidante de sus componentes, fueron las siguientes:

- El tipo de secado, que fueron sometidas las hojas del ajo de monte, por estufa VWR oven 1675 de recirculación de aire o al ambiente, se determinó como la variable o factor independiente.

- La cantidad de compuestos antioxidantes que se encontraron en los extractos de las hojas del ajo sachá en los diferentes tipos de secado, se determinó como la variable o factor dependiente.
- La variabilidad de los parámetros físico químicos que se encontraron en los extractos de las hojas del ajo sachá en los diferentes tipos de secado, se determinó como la variable o factor dependiente.

2.2. Análisis Físico Químico de la Materia Prima

El estudio experimental se realizó en el Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador, con la colaboración del personal del laboratorio de Bioproductos y de los equipos del mismo.

El análisis físico químico se realizó en *Mansoa alliacea* la cual fue recolectada en la provincia de Pastaza, Mera km. 14 Vía Puyo-Baños a una altitud de 1153 metros sobre el nivel del mar, con condiciones climáticas cálido-húmedo, a temperatura promedio entre 20-25°C, con una humedad de 88% y precipitaciones de aproximadamente 4500 cc. Su hidrografía es de los Ríos Pindo Grande y Plata.

Como caracteres macromorfológicos se determinó las dimensiones de las hojas y el color; para ello se tomó una muestra de 100 hojas lo

más homogénea posible, y se determinaron las dimensiones de largo y ancho en centímetros para obtener el promedio; también se tomaron 20 hojas aleatoriamente para la evaluación del color según la categoría de Munsell.

Posteriormente se dividieron las hojas en dos grupos, el primer grupo se secó a temperatura ambiente a una temperatura promedio de 29°C divididos en tres porciones de 100 g cada una, colocadas sobre papel kraft durante 14 días, determinando el peso cada 24 horas, hasta obtener un peso constante. Figura 2.1.

El otro grupo fue secado en estufa de circulación de aire a 45°C por 24 horas, en tres porciones de 100 g, hasta obtener el peso constante (23). Figura 2.2.



Figura 2.1 Secado al ambiente de *Mansoa alliacea*
Elaborado por: Verónica Monserrate



Figura 2.2 Secado en estufa de recirculación de aire de *Mansoa alliacea*
Elaborado por: Verónica Monserrate

Las hojas secadas por los dos métodos fueron pulverizadas por separado en un molino manual y se tamizaron a un tamaño de partículas de 0.8 mm, y se almacenaron en fundas de papel.

Los parámetros de calidad de la droga se realizaron considerando las metodologías de la OMS, 1998 y de Miranda y Cuellar, 2001, éstas fueron:

- Cenizas totales
- Cenizas solubles en agua
- Cenizas insolubles en ácido clorhídrico
- Humedad residual, Método gravimétrico (Pérdida por desecación)

- Sustancias solubles
- Tamizaje fitoquímico

Cada parámetro se determinó por triplicado y se determinaron los valores promedios y los coeficientes de variación, así como el análisis de varianzas establecidos a través del programa estadístico InfoStat con un nivel de significancia de 95% entre las muestras sometidas a diferente tipo de secado.

2.2.1. Determinación de cenizas totales

Para determinar las cenizas totales, se toma la muestra previamente pulverizada y tamizada y se coloca no menos de 2.0g ni más de 3.0g pesados en la balanza analítica Mettler Toledo modelo AB204-S, en un crisol de porcelana seco y previamente tarado. Se calienta suavemente la porción de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar; luego se incinera en un horno mufla marca Thermo – modelo FB1315M a temperatura de 700 - 750 ° C durante 2 horas.

Se deja enfriar el crisol con la porción de ensayo en el desecador para pesar, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 0,5 mg por g (masa constante).

Para obtener la masa constante los intervalos entre calentamiento y pesada fueron de 30 min. Si el residuo presentaba trazas de carbón, se le añadía unas gotas de solución de H₂O₂ concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio al 10% y se calentaba hasta evaporar. Al enfriar el crisol el residuo debe ser de color blanco.

La cantidad de cenizas totales se calculó por la fórmula siguiente:

$$C_T = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} * 100$$

Donde:

C_T = porcentaje de cenizas totales en base hidratada.

M₂ = masa del crisol con las cenizas (g).

M₁ = masa del crisol con la porción de ensayo (g).

M = masa del crisol vacío (g).

100 factor matemático para los cálculos.

2.2.2. Determinación de cenizas solubles en agua

A las cenizas totales obtenidas según el apartado anterior, se le añade de 15 a 20 ml de agua. El crisol se tapa y se hierve suavemente a la llama del mechero durante 5 min. La solución

se filtra con papel filtro libre de cenizas. El papel filtro con el residuo se transfiere al crisol inicial, se carboniza en un mechero y luego se incinera en un horno mufla a 700 – 750°C; durante 2h. Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcanza la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta alcanzar peso constante.

Expresión de los resultados.

$$C_A = \frac{M_2 - M_a}{M_1 - M} * 100$$

Donde:

C_A = porcentajes de cenizas solubles en agua en base hidratada.

M_2 = masa del crisol con las cenizas totales (g).

M_1 = masa del crisol con la muestra de ensayo (g).

M_a = masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g).

M = masa del crisol vacío (g).

100 factor matemático para los cálculos.

2.2.3. Determinación de cenizas insolubles en ácido

Las cenizas ácido insolubles se determinan del residuo que se obtiene después de la disolución de las cenizas totales en ácido clorhídrico al 10%.

A las cenizas totales obtenidas según la técnica se le añaden de 2-3 ml de ácido clorhídrico al 10%. El crisol se tapa con un vidrio reloj y se calienta sobre un baño de agua hirviente durante 10 min. Se lava el vidrio reloj con 5 ml de agua caliente y se une al contenido del crisol. La solución se filtra a través de un papel filtro libre de cenizas; se lava el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico al cual se le añade una o dos gotas de solución de nitrato de plata 0,1M, no muestre presencia de cloruros.

El filtrado con el residuo se deseca a 100 - 105°C; se transfiere al crisol inicial y se incinera en un horno mufla a una temperatura de 700-750°C durante 2h. Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcanza la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta obtener masa constante.

Expresión de los resultados:

$$B = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} * 100$$

Donde:

B= porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada.

M_2 = masa del crisol con las cenizas insolubles en HCL (g).

M_1 = masa del crisol con la porción de ensayo (g).

M = masa del crisol vacío (g).

100 factor matemático para los cálculos.

2.2.4. Determinación del contenido de humedad

De la muestra pulverizada se pesan 2g, con desviación permisible de 0,5mg y se transfieren a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada a 105°C hasta masa constante; seguidamente se deseca a 105°C durante 3h. La cápsula se coloca en la desecadora donde se deja enfriar a temperatura ambiente y se pesa, colocándose nuevamente en la estufa durante 1 h, repitiendo la pesada hasta obtener una masa constante.

Expresión de los resultados

$$Hg = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} * 100$$

Donde:

Hg = pérdida de peso por desecación (%).

M₂ = masa de la capsula con la muestra de ensayo (g).

M₁ = masa de la capsula con la muestra de ensayo desecado (g).

M = masa de la capsula vacía.

100 factor matemático para los cálculos.

2.2.5. Determinación de Sustancias solubles

Se basa en la extracción de las sustancias solubles en agua, mediante maceración y evaporación hasta sequedad de una alícuota del extracto.

De la muestra de ensayo previamente pulverizada y tamizada se pesa 5 g y se transfiere a un recipiente con tapa con capacidad de 250 ml. Se añade 100 ml del disolvente y se agita constantemente durante 6 horas. Se deja en reposo 24 h, luego se agita 30 min y se filtra con papel filtro. Se toma una alícuota

de 20 ml, se transfiere a una cápsula de porcelana previamente tarada, se evapora sobre baño de agua, se deseca en estufa a 105 °C, durante 3 h, se enfría en un desecador y se pesa.

Expresión de los resultados.

$$S_s = \frac{R \times 500 \times 100}{M (100 - H)}$$

Donde:

S_s= sustancias soluble (%)

H = humedad de la muestra (%).

R = residuo de la muestra (g).

M = masa de la muestra (g).

500 y 100 = factores matemáticos para los cálculos.

En todos los casos las pesadas se realizaron en una balanza analítica Mettler H10T.

2.2.6. Tamizaje fitoquímico

Antes de realizar la extracción completa de la muestra a ser analizada, es necesario llevar a cabo pruebas preliminares sencillas y rápidas que permitan detectar cualitativamente la presencia de determinados grupos de compuestos, mediante la formación de precipitados, aparición de coloraciones, etc.

La planta seca fue sometida a tres extracciones sucesivas según el esquema de la Figura 2.3.

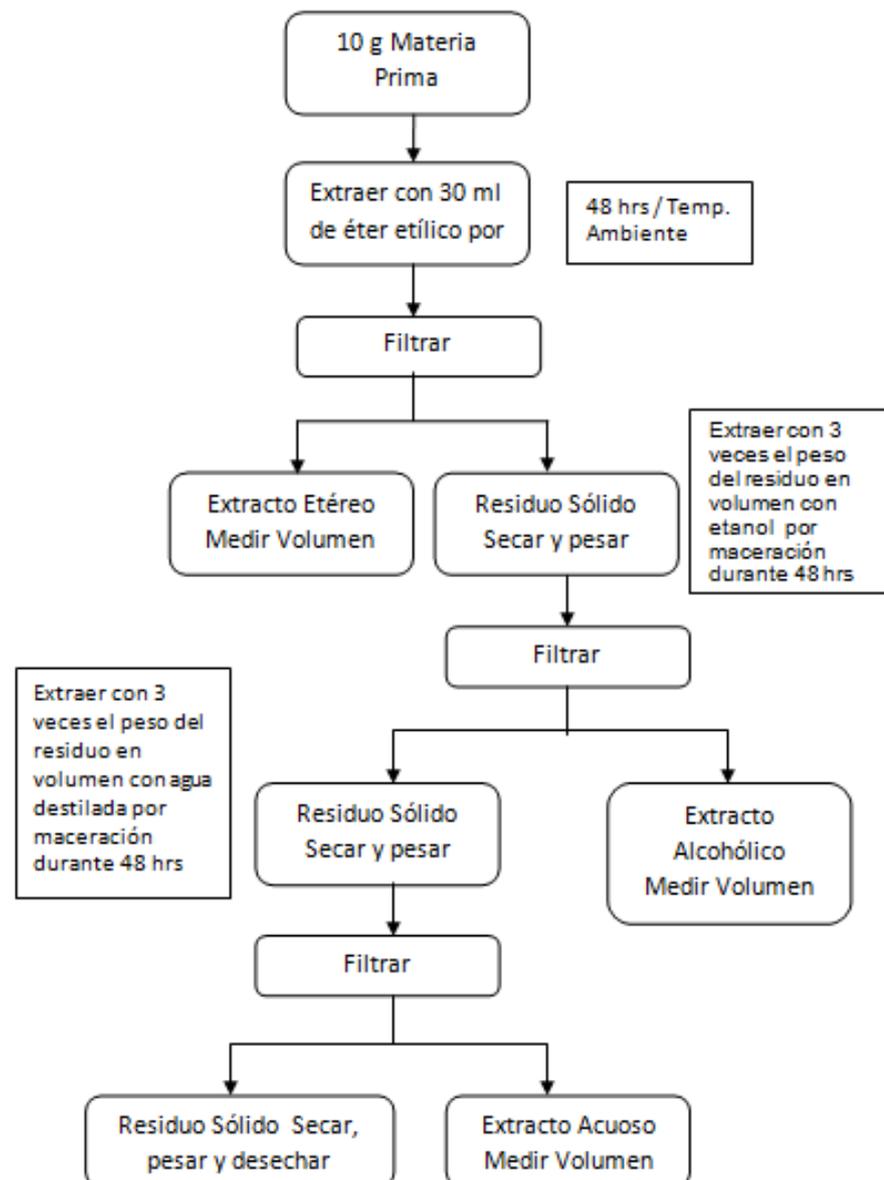


Figura 2.3 Extracción sucesiva de la materia prima para la aplicación de técnicas de Tamizaje Fitoquímico

Fuente: Miranda y Cuellar, 2001

Posteriormente en cada extracto por separado se procedió de acuerdo a los esquemas representados en las Figuras 2.4, 2.5 y 2.6.

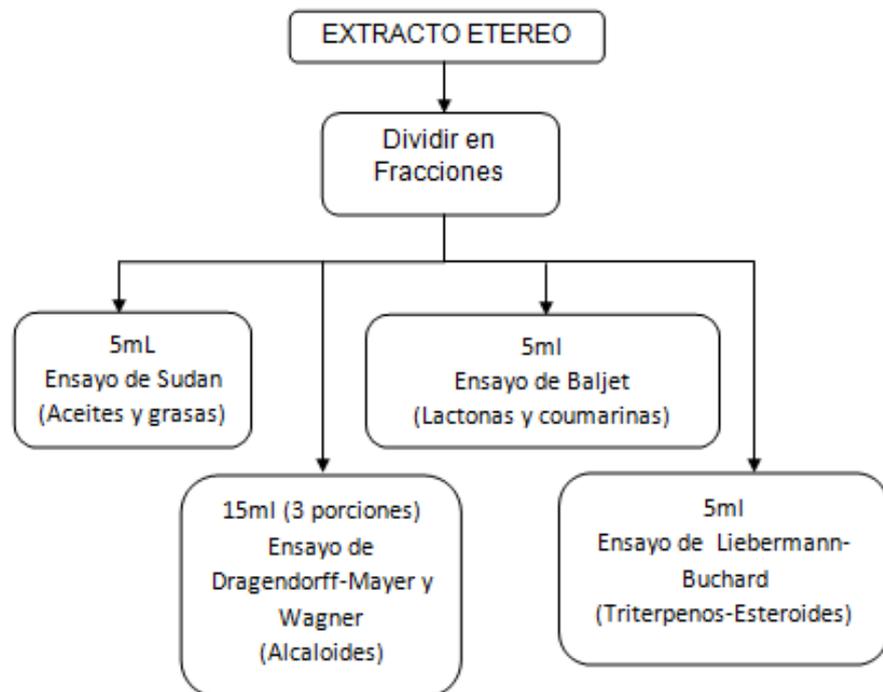


Figura 2.4 Esquema de las reacciones a realizar en el extracto de éter etílico

Fuente: Miranda y Cuellar, 2001

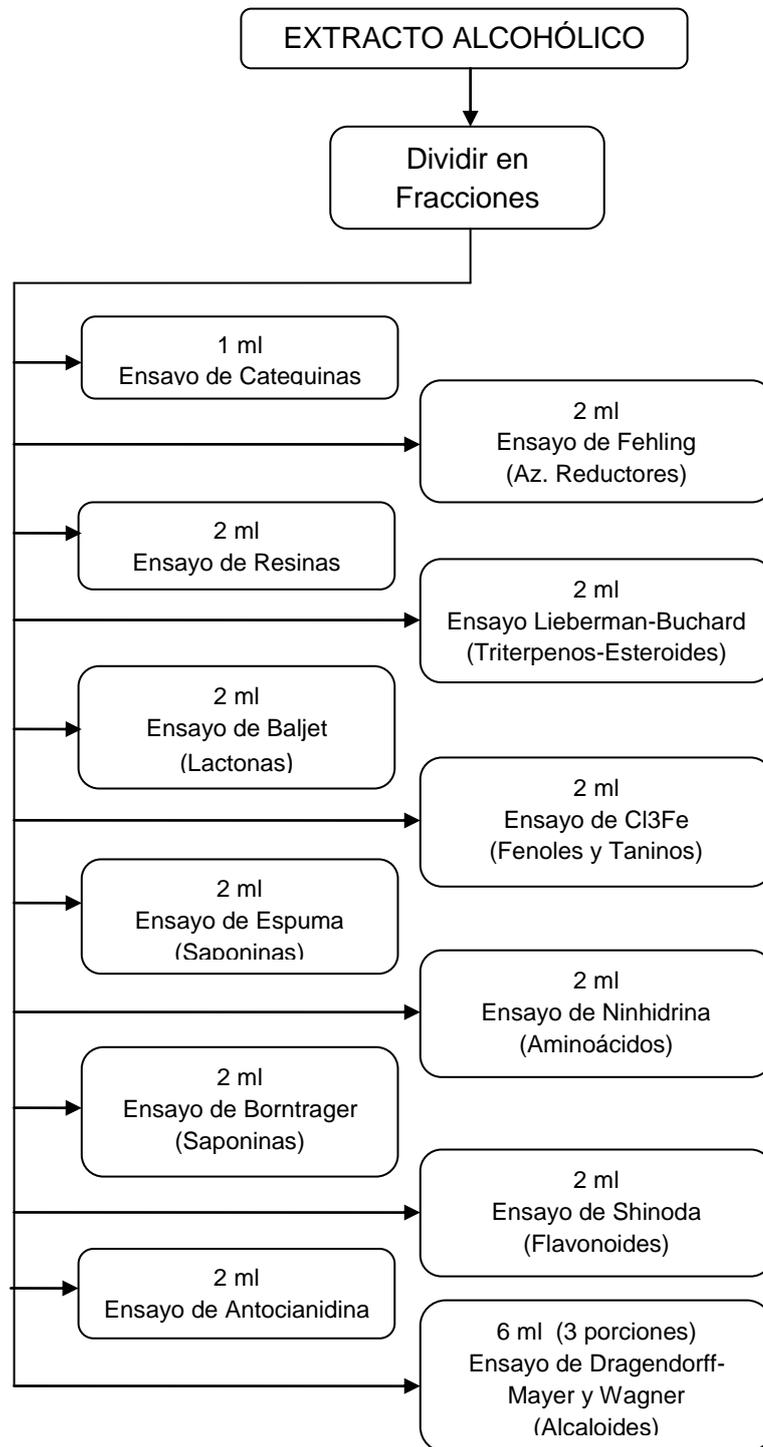


Figura 2.5 Esquema de las reacciones a realizar en el extracto alcohólico

Fuente: Miranda y Cuellar, 2001

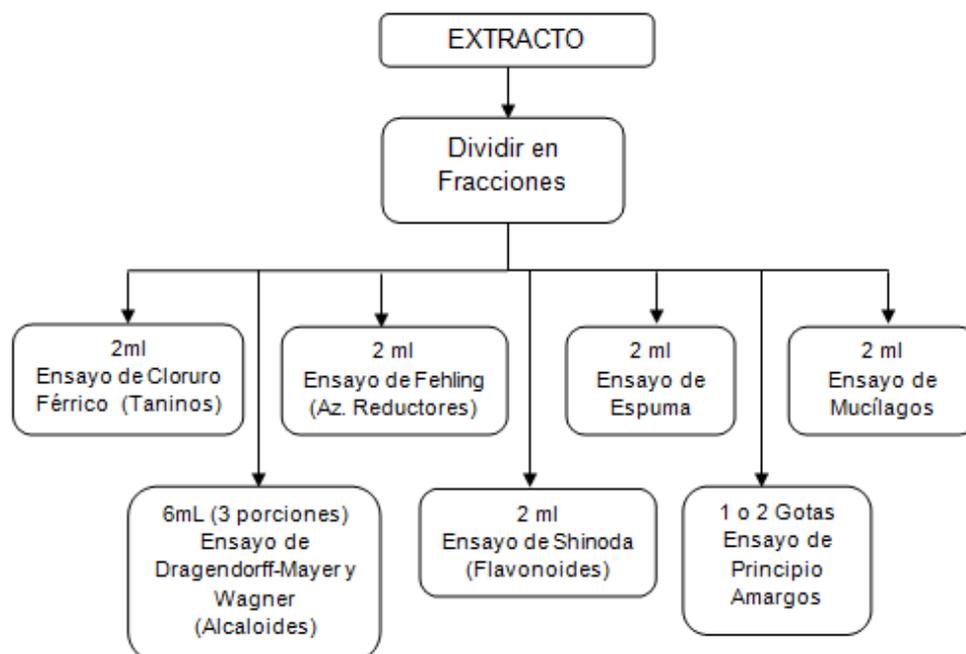


Figura 2.6 Esquema de las reacciones a realizar en el extracto acuoso.

Fuente: Miranda y Cuellar, 2001

2.3. Determinación de la actividad antioxidante

Se comparó la actividad antioxidante entre los extractos metanol:agua obtenidos por maceración de las hojas de *Mansoa alliacea* secadas en estufa y a temperatura ambiente.

Para la medición de la actividad se utilizó un espectrofotómetro marca Spectronic genesys 5 y el compuesto 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) que presenta una intensa coloración violeta y que absorbe radiación a 517 nm. En el ensayo se determina la concentración inicial de DPPH y la concentración resultante una vez que se añadió la muestra con posibles concentraciones de antioxidante, de forma

que una disminución de la absorción de radiación se traduce en una disminución de la concentración de DPPH debida a la cesión de electrones de la especie antioxidante. Se calcula utilizando la fórmula:

$$\%AAR = \frac{A_o - A_e}{A_o} * 100$$

Donde:

A_o es la absorbancia del DPPH sin extracto

A_e es la absorbancia del DPPH con extracto

Se aplicó el programa InfoStat para determinar las diferencias en la actividad antioxidante, según el tipo de secado aplicada a las hojas de *Mansoa alliacea*.

2.4. Elaboración del diagrama de flujo del condimento



Figura 2.7 Diagrama de flujo de la elaboración del condimento
Elaborado por: Verónica Monserrate

- Las hojas al ser recolectada se colocaron en sobres de papel periódico para evitar las pérdidas de humedad en las mismas.

Figura 2.8.



Figura 2.8. Recepción de *Mansoa alliacea*
Elaborado por: Verónica Monserrate

- En la etapa de selección, se escogieron las hojas en perfecto estado y con pocas o nulas lesiones. Figura 2.9.



Figura 2.9 Selección de las hojas de *Mansoa alliacea*
Elaborado por: Verónica Monserrate

- La limpieza se realizó sumergiendo las hojas en agua, para eliminar cualquier agente extraño que pudiera afectar a la inocuidad del producto y posteriormente contribuir a su contaminación. Figura 2.10.



Figura 2.10 Limpieza de *Mansoa alliacea*
Elaborado por: Verónica Monserrate

- En el secado al ambiente las hojas fueron expuestas al medio y pesadas diariamente hasta que se obtuvo peso constante.

Figura 2.11.



Figura 2.11 Secado al ambiente de *Mansoa alliacea*
Elaborado por: Verónica Monserrate

- La trituración de las hojas se realizó en un molino eléctrico Cyclone Sample Mill, marca UDY, hasta que se redujeron a polvo. Figura 2.12.

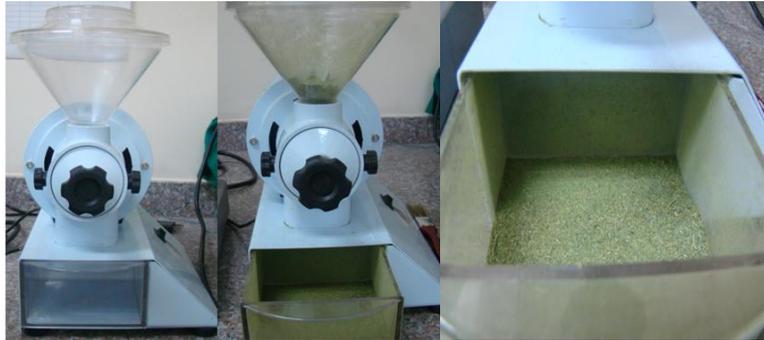


Figura 2.12 Trituración de las hojas de *Mansoa alliacea*
Elaborado por: Verónica Monserrate

- La tamización se realizó con un tamiz No.60 de apertura de malla de 0.250 mm, figura 2.13, para lograr la uniformidad del tamaño de partícula. Figura 2.14.



Figura 2.13 Tamiz No. 60 - 60 Mesh - 0.250 mm
Elaborado por: Verónica Monserrate



Figura 2.14 Producto sin tamizar y tamizado
Elaborado por: Verónica Monserrate

- Finalmente se realizó el empaquetado en el recipiente respectivo, para el consumo. Figura 2.15.



Figura 2.15 Producto final- condimento
Elaborado por: Verónica Monserrate

2.5. Análisis del condimento

2.5.1. Análisis Físico Químico

Al condimento elaborado se le realizaron las siguientes evaluaciones físico-químico:

2.5.1.1 Determinación de humedad del condimento

Para determinar el contenido de humedad se aplicó el mismo protocolo mencionado en el ítem 2.2.4

2.5.1.2 Determinación de actividad de agua.

El análisis de actividad de agua se realizó en el laboratorio de I+D de la facultad de Ingeniería

Mecánica y Ciencias de la producción, utilizando el equipo medidor de Aw Aqua Lab, marca Decagon.

Figura 2.16.



Figura 2.16 Medidor de Aw Aqua Lab
Elaborado por: Verónica Monserrate

Se pesó un gramo de las hojas secadas al ambiente, luego se colocó dentro del equipo para analizar la actividad de agua de cada muestra y se esperó el resultado. El análisis se realizó por triplicado. Figura 2.17.



Figura 2.17 Muestras del Condimento y Medidor de Aw Aqua Lab
Elaborado por: Verónica Monserrate

2.5.1.3 Determinación de concentración de Plomo

Los metales pesados están presentes de forma natural en los suelos, pero en los últimos años se ha observado una acumulación antropogénica, como consecuencia de las actividades industriales, agrícolas y también debido a la deposición de residuos de toda índole (24).

Para el análisis de la concentración de plomo se empleó una balanza analítica marca Shimadzu, Japón, un digestor de microondas CEM MarsXpress modelo 230/60, un espectrofotómetro de absorción atómica ThermoScientific ICE 3000 series y un generador de hidruros marca ThermoScientific VP 100, USA. Los ensayos se realizaron por triplicado.

Las muestras de ensayo se prepararon de acuerdo al procedimiento siguiente: En el matraz digestor se añadieron 0,5 g de droga a estudiar (hojas o tallos), 3 ml de ácido nítrico, 1 ml de peróxido de hidrógeno y 1 ml de ácido clorhídrico, todos grado reactivo. Se sellaron los matraces herméticamente y se colocaron en el horno de microondas. La digestión se llevó a cabo en tres pasos de acuerdo con el esquema

siguiente: 80% de potencia durante 15 minutos; 100% de potencia 5 minutos, luego 80% de potencia 20 minutos. Al finalizar el ciclo se deja enfriar al aire y se añade 4 ml de ácido sulfúrico y se repite el programa de digestión. Después de enfriar en el aire, se abre el matraz de digestión y la solución obtenida se traspasa a un matraz aforado de 50 ml. Se enjuaga cada matraz de digestión dos veces con 15 ml de agua destilada y los líquidos de lavado se añaden al matraz aforado. Se adiciona 1 ml de una solución de nitrato de magnesio (10 g / L) y 1 ml de solución de amonio y dihidrógeno fosfato (100 g / L) y se diluye a 50 ml con agua destilada.

Para preparar el blanco se mezclaron 3 ml de ácido nítrico, 1 ml de peróxido de hidrógeno (30%) y 1 ml de ácido clorhídrico en un matraz de digestión y la digestión se llevó a cabo de la misma manera que para la solución de ensayo.

Para medir el contenido de cadmio (Cd) y plomo (Pb), se empleó el método de adiciones de estándar utilizando soluciones de referencia de cada uno de los metales pesados. El valor de la absorbancia de la

solución en blanco, se resta del valor obtenido con la solución de ensayo.

Los parámetros instrumentales para esta determinación se presentan en la tabla 4.

Tabla 4. Parámetros instrumentales para la determinación de Pb y Cd.

Parámetros	Cd	Pb
Longitud de onda (nm)	228,8	283,5
Ancho de ranura (nm)	0,5	0,5
Corriente de la lámpara catódica hueca (Ma)	6	5
Temperatura de ignición (°C)	800	800
Temperatura de atomización (°C)	1800	2200
Corrector de fondo	on	on
Flujo de nitrógeno (L/min)	3	3
Velocidad de flujo del reactivo ácido (ml/min)		
Velocidad de flujo del reactivo reductor (ml/min)		
Celda de absorción		
Calefacción		

Fuente: Migdalia Miranda, PhD

2.5.1.4 Determinación de concentración de Arsénico

Para analizar la concentración de arsénico se utilizó la metodología ya descrita en el punto 2.5.2.2, con la variación que en el contenido de arsénico (As) y mercurio (Hg) se determinó por comparación con soluciones de referencia que contienen estos elementos a una concentración conocida de calibración directa, utilizando un sistema automatizado de flujo de generación continua de hidruros al sistema. El valor de la absorbancia del líquido de compensación (solución en blanco) es automáticamente restado del valor obtenido con la solución de ensayo.

Los parámetros instrumentales para esta determinación se presentan en la tabla 5.

Tabla 5. Parámetros instrumentales para la determinación de As y Hg.

Parámetros	As	Hg
Longitud de onda (nm)	193,7	253,7
Ancho de ranura (nm)	0,2	0,5
Corriente de la lámpara catódica hueca (Ma)	10	4
Temperatura de ignición (°C)		
Temperatura de atomización (°C)		

Corrector de fondo	on	on
Flujo de nitrógeno (L/min)	0,1	0,1
Velocidad de flujo del reactivo ácido (ml/min)	1,0	1,0
Velocidad de flujo del reactivo reductor (ml/min)	7,0	7,0
Celda de absorción	Cuarzo calentado	Cuarzo sin calentar
Calefacción	800° C	100° C

Fuente: Migdalia Miranda, PhD

2.5.2. Análisis Microbiológicos

Los análisis microbianos que se aplicaron, fueron seleccionados después de obtener los resultados del nivel de actividad de agua del producto, ya que es un parámetro que vuelve selectivo el crecimiento de los microorganismos, como se muestra en la tabla 6. (25) . Se realizaron los análisis generales de aerobios y coliformes totales por triplicado.

Tabla 6. Crecimiento de microorganismos según el nivel de Actividad de agua (Aw).

Organismo	Actividad de agua (Aw)
Mayoría de bacterias	>0.90
Levaduras	>0.88
Mohos	>0.80
Bacterias halófilas	>0.75
Mohos serófilos	>0.61
Levaduras osmófilas	>0.61

Fuente: H. Massaguer, 2010

Análisis de aerobios

Se realizó una solución de 1:10 del condimento, en solución estéril de cloruro de sodio como medio enriquecedor, para diluir la solución madre se realizó otra dilución 10^2 , luego se aplicó 1 ml por triplicado de la disolución en el kid RIDA®COUNT Total aerobic, el tiempo de incubación fue de 24-48 horas a 30-35 °C. Figura 2.18 y 2.19.

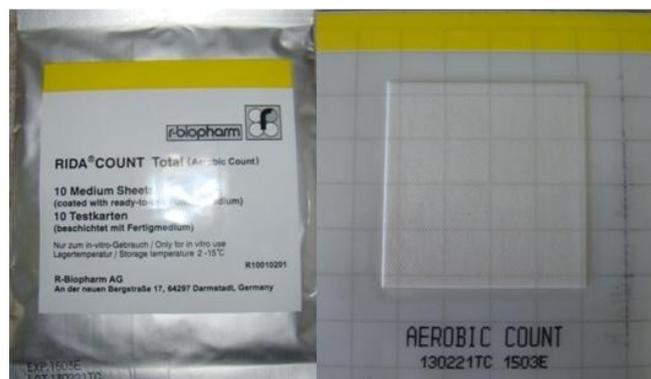


Figura 2.18 Kid RIDA®COUNT Total
Elaborado por: Verónica Monserrate



Figura 2.19 Kid RIDA®COUNT Total inoculado
Elaborado por: Verónica Monserrate

Análisis de coliformes totales

La muestra del condimento fue diluida en una solución estéril de cloruro de sodio a una concentración de 1:10 y de la solución

madre se realizó una segunda solución 10^2 , posteriormente se colocó 1ml de la muestra diluida en el kid RIDA®COUNT Coliform, se realizaron tres repeticiones y se esperaron los resultados por 24 horas a 35 °C que es el tiempo de incubación. Figura 2.20 y 2.21.



Figura 2.20 Kid RIDA®COUNT Coliform
Elaborado por: Verónica Monserrate



Figura 2.21 Kid RIDA®COUNT Coliform inoculado
Elaborado por: Verónica Monserrate

2.5.3. Análisis Sensorial

La prueba sensorial elegida para este análisis fue la prueba pareada que desde el punto de vista sensorial suele ser una de las pruebas más eficaces, e indudablemente, la de más fácil

realización. Recibe este nombre debido a que se trabaja sólo sobre dos muestras.

Una vez que el director del panel haya hecho la presentación del ensayo formulará la pregunta y el catador se encontrará con dos muestras, identificadas convenientemente, una junto a la otra, y a su lado la hoja de respuesta en la que deberá anotar su apreciación. Figura 2.22 (26).

<p>NOMBRE: _____ FECHA _____</p> <p>NOMBRE DEL PRODUCTO _____</p> <p>Frente a usted hay dos muestra de _____, usted debe probar primero la muestra ____ y luego la muestra _____</p> <p>Cual de las dos muestras prefiere? Marque con una X la muestra elegida.</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 10px; text-align: center;"> <p>MUESTRAS</p> <p><input type="checkbox"/> 5937 <input type="checkbox"/> 1654</p> <p>Prefiero la muestra _____</p> </div> <p>Porque la eligió?</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>COMENTARIOS:</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p style="text-align: center;">MUCHAS GRACIAS!</p>
--

Figura 2.22 Prueba de Preferencia Pareada
Fuente: E. Puig, 2002

Para el posterior tratamiento se considera la prueba unilateral cuando el director del panel sabe que hay una diferencia entre las muestras y desea averiguar, *a priori*, por que no se sabe si hay diferencia entre las muestras y desea averiguar si es percibida o no por el panel de catadores (27).

CAPÍTULO 3

3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Determinación de las dimensiones de las hojas

Se escogieron 100 hojas al azar del ajo sachá objeto de estudio, las cuales presentaron un largo promedio de 19,6 cm y un ancho de 10,0 cm.

En las figuras 3.1 y 3.2 se presentan los histogramas de frecuencia para los dos parámetros y se apreció que tanto para el largo como para el ancho no se cumplía una distribución normal, estando los valores agrupados para el largo entre 18.05 cm a 19.75 cm y para el ancho entre 9.18 cm a 10.88 cm.

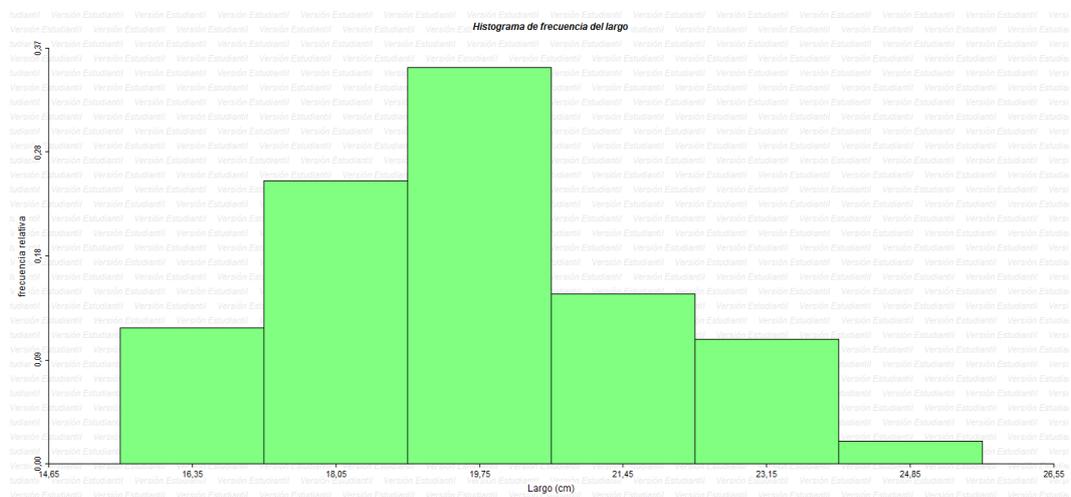


Figura 3.1 Histograma de frecuencia del largo de las hojas de *Mansoa alliacea*

Elaborado por: Verónica Monserrate

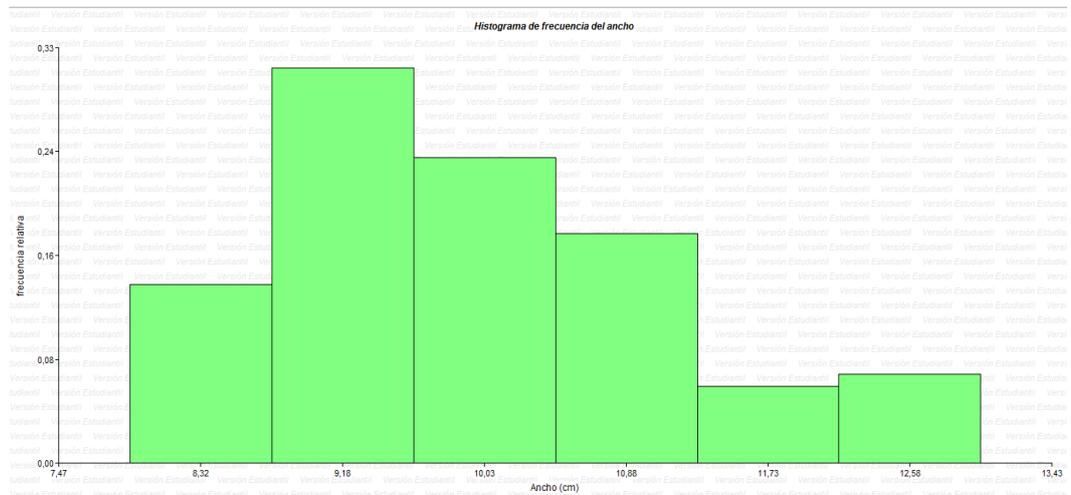


Figura 3.2 Histograma de frecuencia del ancho de las hojas de *Mansoa alliacea*
Elaborado por: Verónica Monserrate

3.1. Análisis Físico Químico de la Materia Prima

Una vez determinada las dimensiones de las hojas, éstas se sometieron por separado a un proceso de secado al ambiente y la estufa hasta alcanzar peso constante y, una vez secas le fueron realizados los parámetros de control de calidad, cuyos resultados se analizaron en el programa Infostat y se presentan en la tabla 7.

Tabla 7. Resultados de los análisis Físico Químico de *Mansoa alliacea*

	Metodo de secado	Muestra					
		Ambiente			Estufa		
		μ	CV	DS	μ	CV	DS
Parámetros de Control de Calidad	Contenido de Humedad %	5,83	8,31	0,48	8,55	4,9	0,42
	Cenizas Totales (C) %	5,33	2,44	0,13	5,56	6,78	0,38
	Cenizas Solubles en Agua (Ca) %	1,37	11,9	0,16	2,09	33,11	0,69
	Cenizas insolubles en Ácido Clorhídrico (B) %	1,48	9,95	0,15	1,31	27,64	0,36
	Determinación de Sustancias Solubles	16,4	1,81	0,3	18,83	3,88	0,73

Elaborado por: Verónica Monserrate

Pérdida por Dsecación

La determinación de humedad residual en el material vegetal es uno de los índices numéricos que ayudan a complementar la calidad del método de secado evaluado. Un exceso de agua en la droga puede provocar la proliferación de microorganismos e insectos, seguido de la hidrólisis de principios activos, específicamente de los metabolitos glicosilados, y por consiguiente el deterioro de la droga.

Las Normas y Farmacopeas establecen, en dependencia del material vegetal, un contenido de humedad residual entre 8 y 14% (28), (23), (29).

Cuando se compararon los valores de pérdida en peso entre las hojas que habían sido secadas por los dos métodos estudiados, se

encontró que las que se secaron a la estufa (8.55%) presentaron un mayor contenido de agua, contrariamente a lo que era de esperar (Figura 3.3), con diferencias significativas para $p < 0,05$ (Apéndice A). En este sentido pensamos que al haberse secado las hojas en estufa sólo por 24 horas a una temperatura de 45°C, éste tiempo no fue suficiente para que la droga se secase completamente y por ello presentó un porcentaje de humedad mayor que las secadas al ambiente (14 días). No obstante estos resultados, los porcentajes de humedad estuvieron para ambas dentro del rango establecido en Normas y Farmacopeas

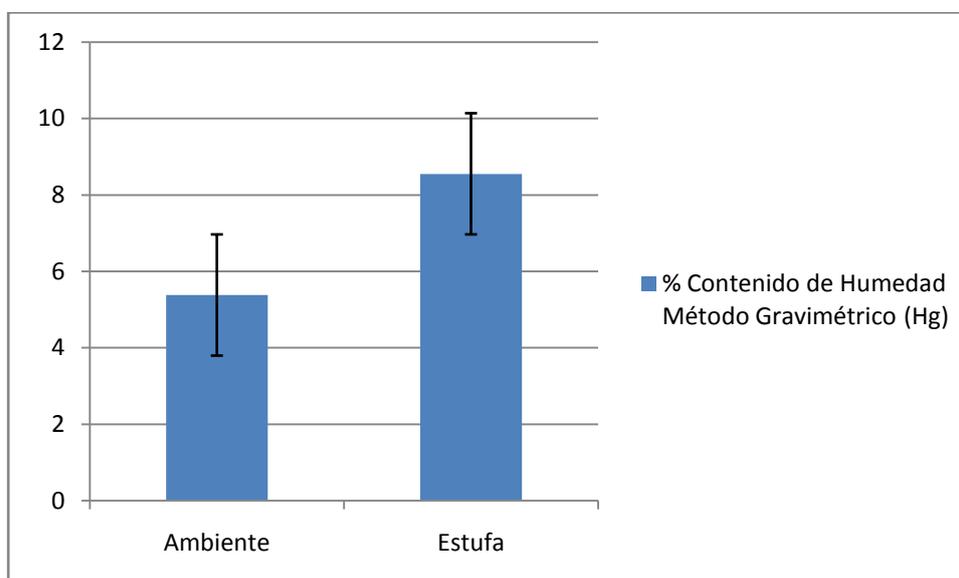


Figura 3.3 Pérdida de peso y error estándar

Elaborado por: Verónica Monserrate

Cenizas Totales, Cenizas solubles en agua y Cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10 %

Las cenizas son indicativas de la calidad del material con que se trabaja y constituye una base para juzgar su pureza e identidad, brindando información relativa a la posible adulteración con materias inorgánicas o cuerpos extraños que posea (23).

La cantidad de cenizas solubles en agua y las insolubles en ácido clorhídrico al 10%, son también parámetros que ayudan a evaluar la pureza de la droga.

Cenizas Totales

Al analizar los datos se pudo comprobar estadísticamente que, el tipo de secado no influyo significativamente ($p > 0,05$), en el porcentaje de cenizas totales de las hojas, como se muestra en la figura 3.4 y el apéndice B.

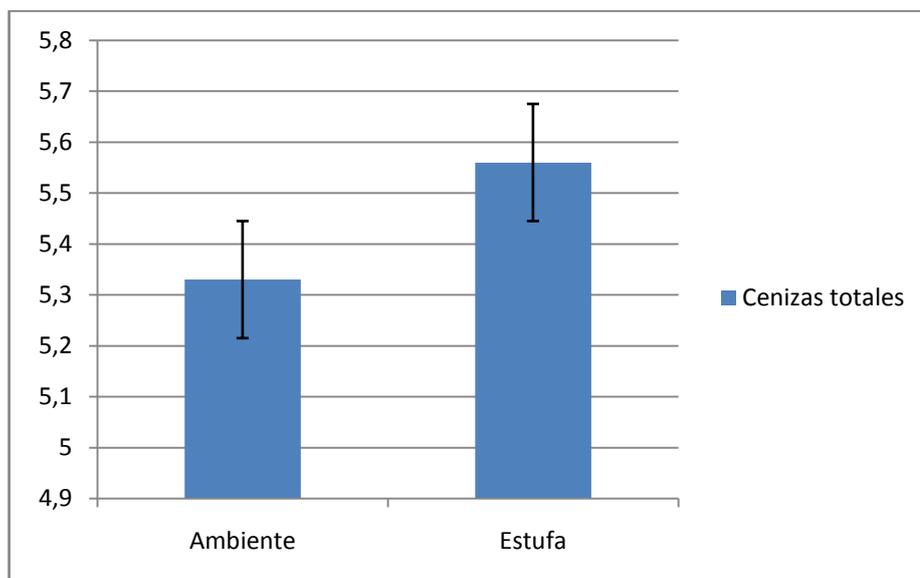


Figura 3.4 Cenizas totales y error estándar
Elaborado por: Verónica Monserrate

Este resultado era de esperar ya que la planta fue recolectada de un mismo lugar y ella absorbe a través de las raíces las sales minerales que se encuentran en el suelo y constituyen las cenizas.

Cenizas solubles en agua

En la figura 3.5 se puede observar que la muestra secada a estufa presentó un mayor porcentaje numérico de cenizas solubles en agua que la muestra secada al ambiente, pero al aplicar el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas entre éstas para un valor $p > 0,05$ (Apéndice C).

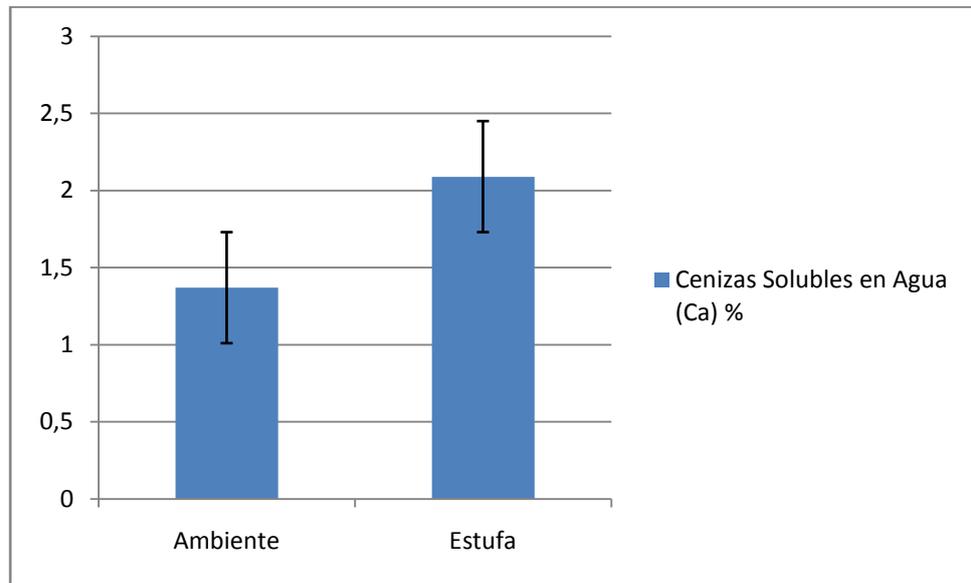


Figura 3.5 Cenizas solubles en agua y error estándar
Elaborado por: Verónica Monserrate

Cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10 %

La muestra secada al ambiente presentó un porcentaje mayor de cenizas insolubles en ácido clorhídrico como lo demuestra la figura 3.6, pero al igual que para las cenizas solubles en agua, no se encontró diferencias estadísticamente significativas para $p > 0,05$ (Apéndice D)

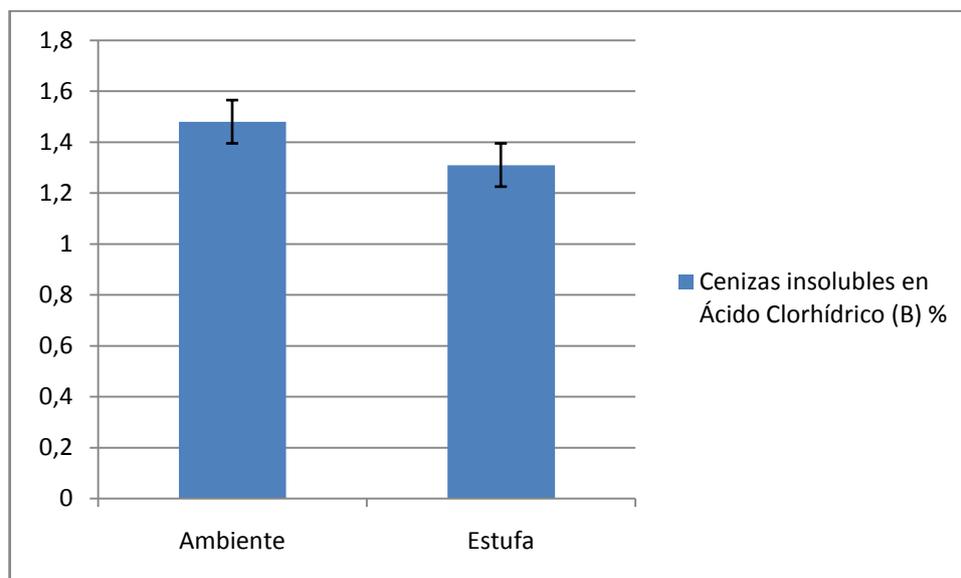


Figura 3.6 Cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10 %
y error estándar

Elaborado por: Verónica Monserrate

Sustancias Solubles

Para las sustancias solubles en agua (figura 3.7), los valores determinados (16,4% ambiente y 18,83% estufa), nos demuestra que existen diferencia significativas ($p < 0,05$), entre los diferentes procedimientos de secado (Apéndice E), estos resultados se encontraron un tanto contradictorios si tenemos en cuenta que la planta secada a la estufa mantuvo un porcentaje de humedad mayor que la secada en ambiente, a no ser que ésta haya influido en algún tipo de transformación, no detectable hasta el momento.

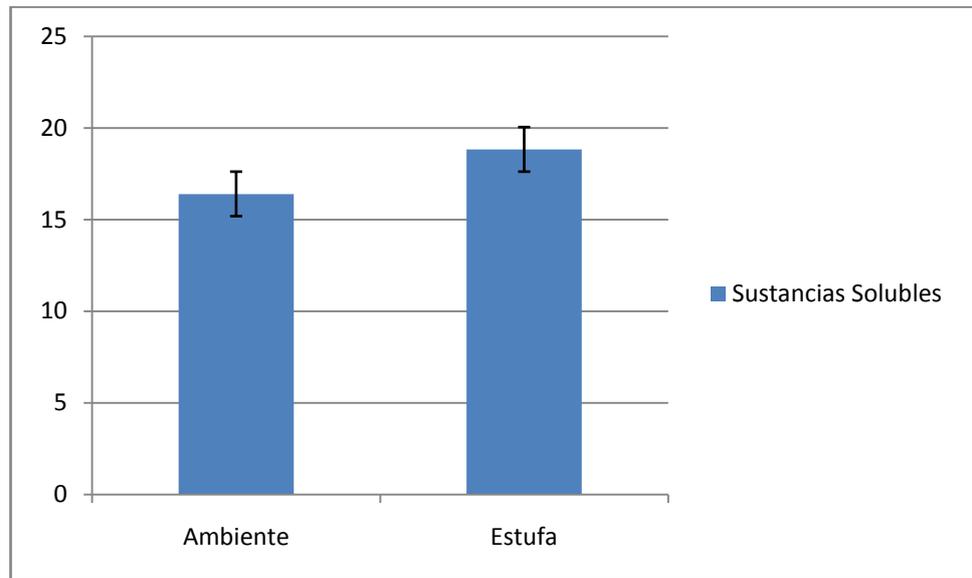


Figura 3.7 Sustancias solubles y error estándar
Elaborado por: Verónica Monserrate

Identificación de metabolitos secundarios por tamizaje fitoquímico

Uno de los aspectos considerados de interés en el estudio de una droga es conocer de forma preliminar su composición química general por métodos de tamizaje fitoquímico.

Después de realizar una extracción sucesiva con disolventes de polaridad creciente, cada extracto por separado fue analizado, comparándose los resultados para las hojas secadas por diferentes métodos.

En la tabla 8 se presentan los resultados de los extractos etéreos de las hojas secadas en ambiente y por estufa.

Tabla 8. Tamizaje Fitoquímico del Extracto Etereo

Tamizaje Fitoquímica					
		Mansoa Alliacea secadas por estufa		Mansoa Alliacea secadas en ambiente	
Extracto Étereo	Ensayo	Resultados	Observación	Resultados	Observación
	Ensayo de Sudan	+	coloracion roja en la muestra	-	
	Ensayo de dragendorff	-		-	
	Ensayo de Mayer	-		-	
	Ensayo de Wagner	+	opalecencia	-	
	Ensayo Baljet	-		-	
	Ensayo de Liebermann-Burchard	-		+	verde oscuro-negro final de la reacción

Elaborado por: Verónica Monserrate

En el análisis del extracto etéreo se encontraron algunas diferencias entre las muestras secadas por diferentes métodos. En la muestra secada por estufa se evidenciaron resultados positivos para el ensayo de Sundán, que demuestra la presencia de compuestos grasos y aceites esenciales y la presencia de alcaloides mediante el ensayo de Wagner, mientras que en la muestra secada en ambiente, se encontró triterpenos y/o esteroides, a través del ensayo de Liebermann-Burchard (23).

Los resultados a que se arribaron para el extracto alcohólico se presentan en la tabla 9.

Para ambas muestras se encontraron resultados positivos para catequinas, triterpenos-esteroides (Liebermann-Burchard) y saponinas (espuma).

Para las hojas secadas por estufa se encontró la presencia de taninos del tipo pirocatecólicos (triclورو férrico), ya que desarrolló una coloración verde intensa en el extracto y en las hojas secadas al ambiente los ensayos positivos fueron para compuestos reductores (Fehling), antocianidinas y alcaloides (ensayo de Dragendorff).

Tabla 9. Tamizaje Fitoquímico del Extracto Alcohólico

Tamizaje Fitoquímica					
		Mansoa Alliacea secadas por estufa		Mansoa Alliacea secadas en ambiente	
Ensayo		Resultados	Observación	Resultados	Observación
Extracto Alcohólico	Ensayo de catequinas	+	Mancha verde carmelita	+	Mancha verde carmelita
	Ensayo de resinas	-		-	
	Ensayo de Fehling	-		+	precipitado rojo
	Ensayo Baljet	-		-	
	Ensayo de Liebermann-Burchard	+	Rosado-azul muy rápido	+	verde oscuro-negro final de la reacción
	Ensayo de espuma	+	Espuma durante 2 min	+	Espuma durante 2 min
	Ensayo del cloruro férrico	+	coloracion verde intenso,	-	
	Ensayo de la ninhidrina	-		-	
	Ensayo de Borntrager	-		-	
	Ensayo de Shinoda	-		-	
	Ensayo de antocianidina	-		+	color marron
	Ensayo de dragendorff	-		+	turbidez
	Ensayo de Mayer	-		-	
	Ensayo de Wagner	-		-	

Elaborado por: Verónica Monserrate

Para el extracto acuoso los ensayos de alcaloides (Dragendorff), flavonoides (Shinoda), así como el ensayo de compuestos reductores (Fehling), dieron positivos en los dos tipos de secados. En el caso de

las hojas secadas por estufa el ensayo de taninos cloruro férrico), resultó positivo y, en las hojas secadas al ambiente, se determinó la presencia de alcaloides (Mayer y Wagner). Tabla 10.

Tabla 10. Tamizaje Fitoquímico del Extracto Acuoso

		Tamizaje Fitoquímica			
		Mansoa Alliacea secadas por estufa		Mansoa Alliacea en ambiente	
Ensayo		Resultados	Observación	Resultados	Observación
Extracto Acuoso	Ensayo de dragendorff	+++	precipitado	+++	precipitado
	Ensayo de Mayer	-		+	turbidez
	Ensayo de Wagner	-		+	turbidez
	Ensayo del cloruro férrico	+	coloración azul, taninos del	-	
	Ensayo de Shinoda	+	carmelita	+	carmelita
	Ensayo de Fehling	+	precipitado rojo	+	precipitado rojo
	Ensayo de espuma	-		-	
	Ensayo de mucílagos	-		-	
	Ensayo de principios amargos y astringentes	-	picante y sabor a ajo	-	picante y sabor a ajo

Elaborado por: Verónica Monserrate

En resumen se puede plantear que como componentes de las hojas de *Mansoa alliacea*, se detectaron la presencia de los siguientes metabolitos: aceites esenciales, alcaloides, esteroides, catequinas, saponinas, compuestos reductores y flavonoides, los cuales se corresponden con la información encontrada en la literatura (11). Las diferencias encontradas en las hojas sometidas a diferentes procesos de secado pueden ser debidas a problemas de concentración y/o problemas de manipulación.

3.2. Actividad Antioxidante

Son muchas las enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo y la generación de radicales libre y existe la necesidad de ayudar a los organismos celulares a mantener un balance de óxido reducción constante, preservando el equilibrio entre la producción de oxidantes que se generan como resultado del metabolismo celular y los sistemas de defensa antioxidantes.

Muchas plantas presentan compuestos que tienen la capacidad de captar los radicales libres y por tanto contribuir al balance celular; *Mansoa alliacea*, es una especie a la que se ha atribuido estas propiedades (30).

Con vistas a corroborar dicha actividad, se realizó la determinación de la actividad antioxidante de los extractos metanol:agua de la especie sometida a diferentes procesos de secado. Los resultados se muestran en la figura 3.8.

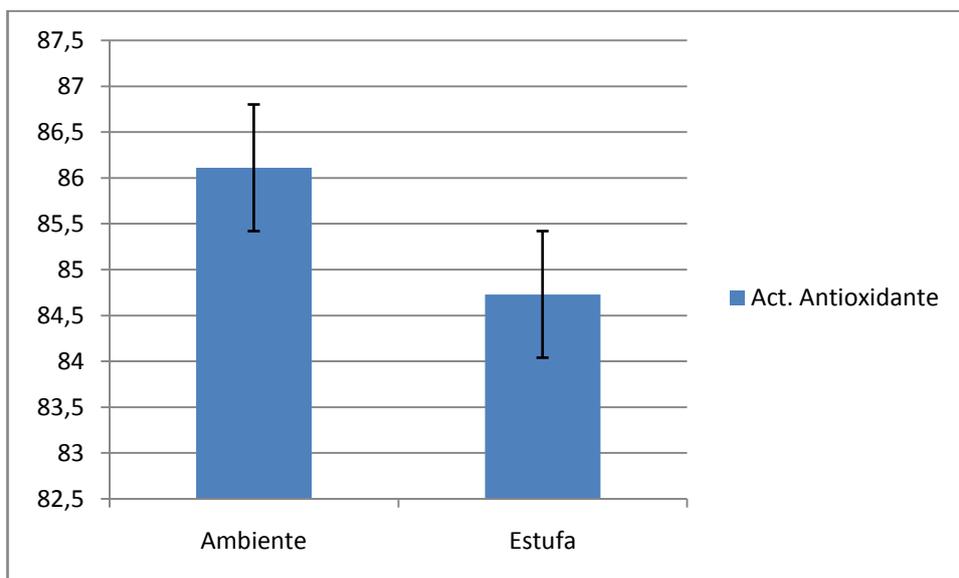


Figura 3.8 Actividad antioxidante de los extractos de las plantas secadas por diferentes métodos
Elaborado por: Verónica Monserrate

Como se observa, la planta sometida a secado al ambiente, presentó una significativamente mayor actividad antioxidante que la sometida a secado en estufa ($p < 0,05$, apéndice F)

Estas diferencias podrían ser debidas a que durante el secado a temperatura de 45°C , se haya producido oxidaciones de la alicina o transformación de algún compuesto con actividad antioxidante.

3.3. Características del condimento

3.3.1. Características organolépticas

El condimento es un polvo heterogéneo de las hojas de *Mansoa alliacea* de color verde 2,5 GY 7/4 según Munsell, y

granulometría de 60 mesh o 0,250 mm, con aroma y sabor a ajo.

3.3.2. Características Físico Químico

El condimento presentó las siguientes características físico-químicas: (tabla 11)

Tabla 11. Resultados de los análisis físico-químicos

Pérdida en peso (%)	5,83 ± 0,48
Cenizas totales (%)	5,33 ± 0,13
Cenizas solubles en agua (%)	1,33 ± 0,16
Cenizas insolubles en HCl 10% (%)	1,45 ± 1,35
Sustancias solubles en agua (%)	16,4 ± 0,3

Elaborado por: Verónica Monserrate

Metales Pesados

Aunque los valores de cenizas insolubles en ácido estaban dentro de los límites establecidos, se decidió realizar el estudio en el condimento, para garantizar la inocuidad de este producto a utilizarse en la alimentación. Los resultados arrojaron ausencia de metales pesados en el condimento.

Actividad de agua

La actividad de agua es uno de los factores intrínsecos que posibilitan o dificultan el crecimiento microbiano en los alimentos. Por ello la medición de la actividad de agua es importante para controlar dicho crecimiento.

Como se muestra en la figura 3.9, debido a la falta de tiempo de secado en estufa las hojas de ajo sacha tuvieron un mayor porcentaje de actividad de agua, que las hojas secadas al ambiente, comprobado estadísticamente debido a que el factor $p < 0,05$ demostró que hubo diferencia significativa. (Apéndice G)

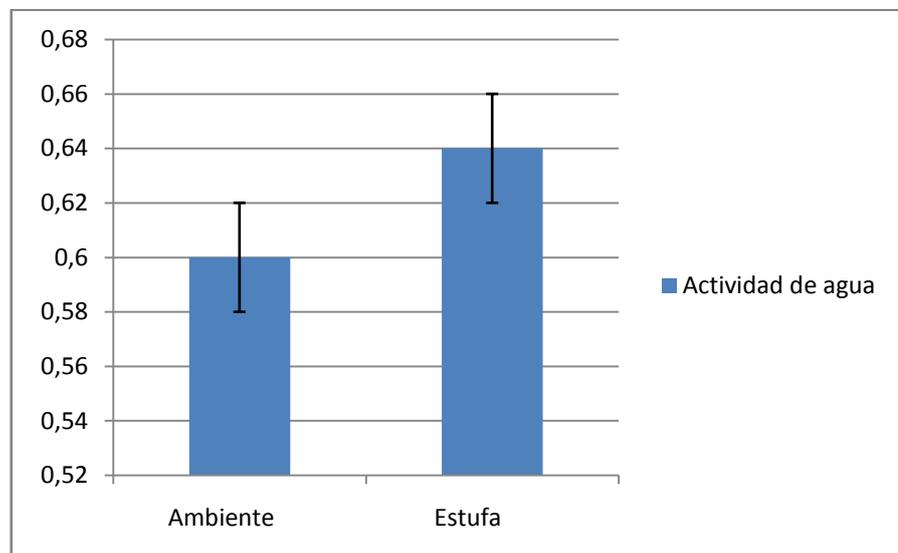


Figura 3.9 Actividad de agua y error estándar
Elaborado por: Verónica Monserrate

3.3.3. Características microbiológicas

En el estudio realizado se observó que la cantidad de colonias (tabla 12) encontradas en los análisis microbiológicos fueron menores que los parámetros establecidos de la norma NTE INEN 2 532:2010 de Especies y condimentos (Anexo A), por lo que el producto tiene aceptación.

Tabla 12. Reporte del crecimiento de colonias.

M.O	M. secado	repetición	colonias 10 ¹	T. incubación
Coliforme	Ambiente	1	0	24 H
Coliforme	Ambiente	2	2	24 H
Coliforme	Ambiente	3	3	24 H
Coliforme	Estufa	1	0	24 H
Coliforme	Estufa	2	0	24 H
Coliforme	Estufa	3	0	24 H
Coliforme	Blanco	1	0	24 H
Coliforme	Blanco	2	0	24 H
Aerobios T.	Ambiente	1	7	24 H
Aerobios T.	Ambiente	2	12	24 H
Aerobios T.	Ambiente	3	7	24 H
Aerobios T.	Estufa	1	2	24 H
Aerobios T.	Estufa	2	3	24 H
Aerobios T.	Estufa	3	1	24 H
Aerobios T.	Blanco	1	7	24 H
Aerobios T.	Blanco	2	0	24 H

Elaborado por: Verónica Monserrate

3.3.4. Análisis sensorial

Se realizó el ensayo con la participación de 38 catadores inexpertos, los cuales realizaron la evaluación sensorial (figura 3.10) (Apéndice H). Los resultados se demostraron en la figura 3.11.



Figura 3.10 Evaluación sensorial del condimento de ajo sachá.
Elaborado por: Verónica Monserrate

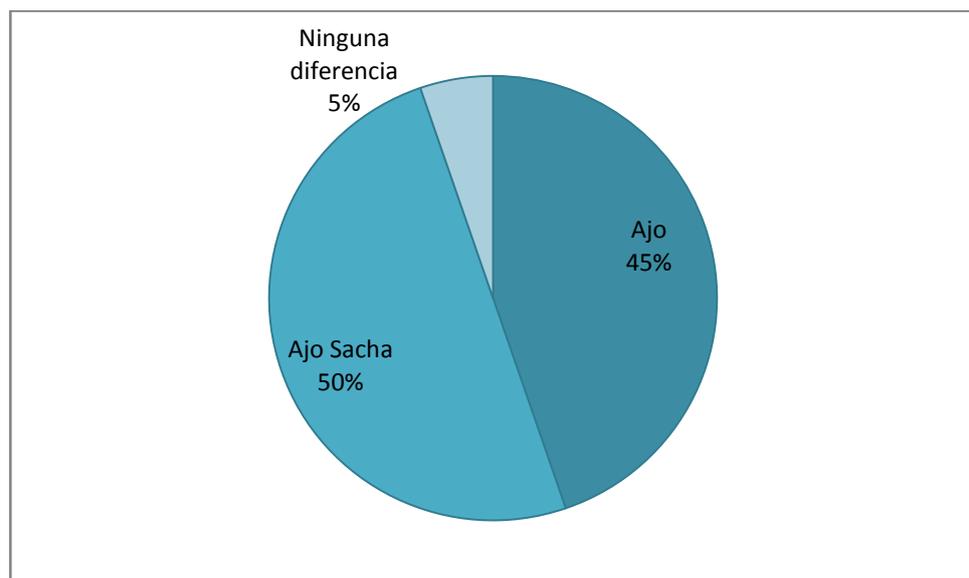


Figura 3.11 Porcentaje de aceptación entre el ajo en polvo y el ajo sachá.
Elaborado por: Verónica Monserrate

Como podemos observar en el gráfico, si hubo una diferencia entre las dos muestras, obteniendo una mayor aceptación el ajo sachá con

19 personas que representan el 50% de la población, en comparación con las 17 personas, que prefirieron el ajo en polvo representadas por el 45 % y 2 personas representadas por el 5%, que no encontraron ninguna diferencia entre las dos muestras.

La cualidad que predominó para ser seleccionado el ajo sachá, fue que la muestra tenía un mejor sabor y en los comentarios se recomendó tamizar con una granulometría mayor, ya que en algunas muestras se observó pequeñas partículas verdes que influyó como un parámetro de aceptabilidad, pero de igual manera fue seleccionada por el sabor.

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten arribar a las siguientes conclusiones.

- Existen diferencia significativa en la actividad antioxidantes de las hojas de *M. alliacea* secada por diferentes métodos, obteniendo mayor concentración de compuestos antioxidantes (86,11%) en el secado al ambiente, en comparación con el secado en estufa (84,73%), otorgando la titularidad como alimento funcional poco conocido en el ecuador.
- De los parámetros físico-químicos evaluados, solo la humedad residual y las sustancias solubles en agua presentaron una diferencia significativa respuesta al método de secado empleado. La HR obtenido para las hojas secadas al ambiente fue menor y las sustancias solubles en agua fue superior en las hojas secadas a la estufa.
- Como metabolitos secundarios de la especie se corroboró la presencia de: aceites esenciales, alcaloides, esteroides, catequinas, saponinas, compuestos reductores y flavonoides, encontrándose algunas diferencias entre las hojas secadas por los métodos empleados,

atribuidos a problemas de concentración y límites de detección de los reactivos

- En el condimento elaborado los parámetros físico-químico se encontraron dentro de los rangos establecidos en la norma NTE INEN 2 532:2010 de Especies y Condimentos, al igual que en los análisis microbiológicos (coliformes y aerobios totales) donde se encontró cantidades de colonias menores que 10^1 , en el contenido de metales pesados (Pb y Cd, As y Hg) los resultados revelaron ausencia de los mismos y en la actividad de agua los valores menores a 0,69 generaban un ambiente muy hostil para el crecimiento de microorganismos patógenos, cumpliendo así los parámetros establecidos de calidad e inocuidad
- El 50% de los consumidores mostraron completa aceptación por el condimento para carnes, un 45% prefirió el ajo tradicional y un 5% no encontró ninguna diferencia entre las dos muestras evaluadas en la prueba sensorial.

RECOMENDACIONES

- Durante la recolección de las hojas de *Mansoa alliacea* evitar la pérdida de humedad, también la contaminación física y microbiana, durante el transporte.

- Aplicar el tiempo suficiente de secado para lograr un peso constante en las hojas y evitar alteraciones en los resultados.
- Complementar esta investigación con un estudio de factibilidad agroindustrial y económica para la elaboración del condimento a escala industrial.

APÉNDICE A

Variable dependiente:

Contenido de Humedad

Variable independiente

Tipo de secado

x: secado al ambiente;

y: secado en estufa

Supuesto:

Los dos tipos de secados no influyen en la pérdida de peso.

$$H_0: x=y$$

$$H_1: \neg H_0$$

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Contenido de Humedad	6	0,93	0,91	6,3

Cuadro de análisis de la varianza de la pérdida en peso

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	11,1	1	11,1	54,21	0,0018
Tipo de Secado	11,1	1	11,1	54,21	0,0018
Error	0,82	4	0,2		
Total	11,92	5			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,02575				
Error: 0,2047	gl: 4			
Tipo de Secado	Medias	n	E.E.	
Ambiente	5,83	3	0,26	A
Estufa	8,55	3	0,26	B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)				

Medidas resumen

Tipo de Secado	Variable	Media	D.E.	E.E.	CV
Ambiente	Contenido de Humedad	5,83	0,48	0,28	8,31
Estufa	Contenido de Humedad	8,55	0,42	0,24	4,9

Con un valor $-P$ menor a 0,05 (valor- $P = 0,0018$) existen evidencia estadística suficiente para rechazar H_0 a favor de H_i , por lo tanto el tipo de secado si influyó en la pérdida en peso.

APÉNDICE B

Variable dependiente:

Porcentaje de Cenizas totales

Variable independiente

Tipo de secado

x: secado al ambiente;

y: secado en estufa

Supuesto:

Los dos tipos de secados no influyen en el porcentaje de cenizas totales.

$$H_0: x=y$$

$$H_1: \neg H_0$$

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Cenizas Totales (C) %	6	0,2	0	5,18

Cuadro de análisis de la varianza del porcentaje de cenizas totales

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,08	1	0,08	1,00	0,3746
Tipo de secado	0,08	1	0,08	1,00	0,3746
Error	0,32	4	0,08		
Total	0,4	5			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,63959				
Error: 0,0796	gl: 4			
Tipo de secado	Medias	n	E.E.	
Ambiente	5,33	3	0,16	A
Estufa	5,56	3	0,16	A
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)				

Medidas resumen

Tipo de secado	Variable	Media	D.E.	E.E.	CV
Ambiente	Cenizas Totales (C) %	5,33	0,13	0,08	2,44
Estufa	Cenizas Totales (C) %	5,56	0,38	0,22	6,78

Con un valor $-P$ mayor a 0,05 (valor- $P = 0,3746$) no existen evidencia estadística suficiente para rechazar H_0 a favor de H_i , por lo tanto el tipo de secado no influyó en el porcentaje de cenizas totales.

APÉNDICE C

Variable dependiente:

Porcentaje de Cenizas solubles en Agua (Ca) %

Variable independiente

Tipo de secado

x: secado al ambiente;

y: secado en estufa

Supuesto:

Los dos tipos de secados no influyen en el porcentaje de cenizas solubles en Agua.

$$H_0: x=y$$

$$H_1: \neg H_0$$

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Cenizas Solubles en Agua	6	0,44	0,3	29,08

Cuadro de análisis de la varianza del porcentaje de Cenizas solubles en Agua

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)						
F.V	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo.	0,78	1	0,78	3,11	0,1528	
Tipo de secado	0,78	1	0,78	3,11	0,1528	
Error	1,01	4	0,25			
Total	1,8	5				

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,13940				
Error: 0,2526	gl: 4			
Tipo de secado	Medias	n	E.E.	
Ambiente	1,37	3	0,29	A
Estufa	2,09	3	0,29	A
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)				

Medidas resumen

Tipo de secado	Variable	Media	D.E.	E.E.	CV
Ambiente	Cenizas Solubles en Agua	1,37	0,16	0,09	11,9
Estufa	Cenizas Solubles en Agua	2,09	0,69	0,4	33,11

Con un valor $-P$ mayor a 0,05 (valor- $P = 0,1528$) no existen evidencia estadística suficiente para rechazar H_0 a favor de H_i , por lo tanto el tipo de secado no influyó en el porcentaje de cenizas solubles en agua.

APÉNDICE D

Variable dependiente:

Porcentaje de Cenizas insolubles en Ácido Clorhídrico (B) %

Variable independiente

Tipo de secado

x: secado al ambiente;

y: secado en estufa

Supuesto:

Los dos tipos de secados no influyen en el porcentaje de cenizas insolubles en Ácido Clorhídrico.

$$H_0: x=y$$

$$H_1: \neg H_0$$

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Cenizas insolubles en Ácido clorhidrico	6	0,12	0	19,83

Cuadro de análisis de la varianza del porcentaje de Cenizas insolubles en Ácido Clorhídrico al 10%

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,04	1	0,04	0,54	0,502
Tipo de secado	0,04	1	0,04	0,54	0,502
Error	0,31	4	0,08		
Total	0,35	5			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,62790				
Error: 0,0767	gl: 4			
Tipo de secado	Medias	n	E.E.	
Estufa	1,31	3	0,16	A
Ambiente	1,48	3	0,16	A
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)				

Medidas resumen

Tipo de secado	Variable	Media	D.E.	E.E.	CV
Ambiente	Cenizas insolubles en Ácido clorhídrico	1,48	0,15	0,09	9,95
Estufa	Cenizas insolubles en Ácido clorhídrico	1,31	0,36	0,21	27,64

Con un valor $-P$ mayor a 0,05 (valor- $P = 0,502$) no existen evidencia estadística suficiente para rechazar H_0 a favor de H_i , por lo tanto el tipo de secado no influyó en el porcentaje de cenizas insolubles en Ácido Clorhídrico.

APÉNDICE E

Variable dependiente:

Porcentaje de Sustancias Solubles

Variable independiente

Tipo de secado

x: secado al ambiente;

y: secado en estufa

Supuesto:

Los dos tipos de secados no influyen en el porcentaje de Sustancias Solubles

$$H_0: x=y$$

$$H_1: \neg H_0$$

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Determinación de Sustancias solubles	6	0,99	0,99	1,71

Cuadro de análisis de la varianza del porcentaje de Sustancias solubles.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	8,52	1	8,52	522,19	<0,0001
Tipo de Secado	8,52	1	8,52	522,19	<0,0001
Error	0,07	4	0,02		
Total	8,59	5			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,28958					
Error: 0,0163	gl: 4				
Tipo de Secado	Medias	n	E.E.		
Ambiente	6,3	3	0,07	A	
Estufa	8,68	3	0,07		B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Medidas resumen

Tipo de Secado	Variable	Media	D.E.	E.E.	CV
Ambiente	Sustancias Solubles	6,3	0,18	0,1	2,8
Estufa	Sustancias Solubles	8,68	0,04	0,02	0,46

Con un valor $-P$ menor a 0,05 (valor- $P = 0,0001$) existen evidencia estadística suficiente para rechazar H_0 a favor de H_1 , por lo tanto el tipo de secado si influyó en el porcentaje de sustancias solubles.

APÉNDICE F

Variable dependiente:

Actividad Antioxidante

Variable independiente

Tipo de secado

x: secado al ambiente;

y: secado en estufa

Supuesto:

Los dos tipos de secados no influyen en la actividad antioxidante.

$$H_0: x=y$$

$$H_1: \neg H_0$$

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Act. Antioxidante	30	0,76	0,75	0,46

Cuadro de análisis de la varianza de la actividad antioxidante.

Variable	Secado	N	Medias	D.E	Medianas	H	P
Act. Antioxidante %	Ambiente	9	86,33	0,31	86,27	12,79	<0,0001
Act. Antioxidante %	Estufa	9	84,95	0,36	84,91		

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,29644				
Error: 0,1571	gl: 28			
Muestra	Medias	n	E.E.	
estufa	84,95	15	0,1	A
ambiente	86,33	15	0,1	B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)				

Medidas resumen

Secado	Variable	Media	E.E.	CV
Ambiente	Act. Antioxidante %	86,33	0,1	0,36
Estufa	Act. Antioxidante %	84,95	0,12	0,42

Con un valor $-P$ mayor a 0,05 (valor- $P = 0,0001$) existen evidencia estadística suficiente para rechazar H_0 a favor de H_1 , por lo tanto el tipo de secado si influyó en la actividad antioxidante.

APÉNDICE G

Variable dependiente:

Actividad de Agua

Variable independiente

Tipo de secado

x: secado al ambiente;

y: secado en estufa

Supuesto:

Los dos tipos de secados no influyen en la actividad de agua.

$$H_0: x=y$$

$$H_1: \neg H_0$$

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Aw	6	0,77	0,71	2,29

Cuadro de análisis de la varianza de la actividad de agua.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2,70E-03	1	2,70E-03	13,4	0,0216
Tipo de secado	2,70E-03	1	2,70E-03	13,4	0,0216
Error	8,00E-04	4	2,00E-04		
Total	3,50E-03	5			

Error: 0,0002	gl: 4				
Tipo de secado	Medias	n	E.E.		
Ambiente	0,6	3	0,01	A	
estufa	0,64	3	0,01	B	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Medidas resumen

Tipo de secado	Variable	Media	D.E.	E.E.	CV
Ambiente	Aw	0,6	0,02	0,01	2,7
estufa	Aw	0,64	0,01	0,01	1,87

Con un valor $-P$ menor a 0,05 (valor- $P = 0,0216$) existen evidencia estadística suficiente para rechazar H_0 a favor de H_i , por lo tanto el tipo de secado si influyó en la actividad de agua.

APÉNDICE H

Ficha de la prueba pareada para la evaluación sensorial

Nombre: _____ Fecha: _____

Ajo sachá en polvo

Frente a usted hay dos muestras, pruebe primero la muestra 5937 y luego la muestra 1654.

¿Cuál de las dos muestras prefiere? Marque con una X la muestra elegida.

MUESTRAS

___ 5937

___ 1654

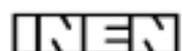
¿Porque la eligió?

Comentarios:

Muchas Gracias

ANEXO A

**Norma NTE INEN 2 532:2010 de Especies y
condimentos**



INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 2 532:2010

ESPECIAS Y CONDIMENTOS. REQUISITOS.

Primera Edición

SPICES AND CONDIMENTS. REQUIREMENTS.

First Edition

DESCRIPTORES: Tecnología de alimentos, especias y condimentos, aditivos alimenticios, requisitos.
AL 02.05-409
CDU: 613.291
CIIU: 3121
ICS: 67.220.10

Norma Técnica
Ecuatoriana
Voluntaria

ESPECIAS Y CONDIMENTOS.
REQUISITOS.

NTE INEN
2 532:2010
2010-01

1. OBJETO

1.1 Esta norma establece los requisitos que deben cumplir las especias y condimentos

2. ALCANCE

2.1 Esta norma se aplica a las especias y condimentos que se usan directamente en la preparación de alimentos.

3. DEFINICIONES

3.1 Para los efectos de esta norma se adoptan las siguientes definiciones:

3.1.1 *Especias.* La denominación de "especias" comprende a plantas o partes de ellas (raíces, rizomas, bulbos, hojas, cortezas, flores, frutos y semillas) desecadas, que contienen sustancias aromáticas, sápidas o excitantes, o sus principios activos, empleadas para dar sabor, color y aroma a los alimentos; pueden ser enteras, troceadas o molidas.

3.1.2 *Aceites esenciales de especias.* Son los extractos aromáticos volátiles, preparados de las especias, mediante destilación por vapor.

3.1.3 *Oleoresinas de especias.* Son las resinas volátiles y no volátiles de las especias extraídas, utilizando solventes grado alimenticio.

3.1.4 *Condimentos (alíños, sazónador, adobo).* Son productos constituidos por una o más especias u oleoresinas de especias, mezcladas con otras sustancias alimenticias, para mejorar y realzar el sabor, color y aroma de los alimentos.

3.1.5 *Sal con especias.* Son mezclas de sal para consumo humano, con especias.

4. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS

4.1 Las especias y condimentos se deben procesar bajo las condiciones establecidas en el Reglamento de buenas prácticas de manufactura para alimentos procesados.

4.2 Los procesadores de especias y condimentos, deben establecer las especificaciones o requisitos de la materia prima e incluir los requisitos de Buenas Prácticas Agrícolas.

4.3 Las especias deben estar limpias y exentas de materia extraña y de sustancias que modifiquen la naturaleza del producto (colorantes, edulcorantes, antioxidantes, aceites minerales, almidón entre otras).

4.4 Las especias pueden expendirse enteras, troceadas o molidas.

4.5 Las especias molidas o en polvo deben, corresponder taxonómicamente a la especie declarada, ser inocuas y presentar las características macroscópicas y microscópicas que les son propias.

4.6 Las especias no debe contener más de 10% de otras partes del vegetal exentas de propiedades aromatizantes y saborizantes.

(Continúa)

DESCRIPTORES: Tecnología de alimentos, especias y condimentos, aditivos alimenticios, requisitos.

4.7 Las especias deben contener los aceites esenciales que caracteriza a cada una.

4.8 No se permite el uso de esencias o extractos artificiales o sintéticos que refuercen el sabor de la especias pura.

4.9 Como vehiculos, en la preparación de condimentos, se puede utilizar carbohidratos, proteínas, sal para consumo humano, grasas o aceites comestibles.

5. REQUISITOS

5.1 Requisitos específicos

5.1.1 Se consideran especias a las siguientes ¹⁾

Nombre común	Nombre científico	Parte usada
ACHIOTE	<i>Bixa Orellana</i> L.	Semillas
ALBAHACA	<i>Ocimum Basilicum</i> L.	Hojas
ALCARAVEA CARAWAY	<i>Carum carvi</i> L.	Frutos
ALCARAVEA NEGRA COMINO NEGRO, COMINO ALEMÁN	<i>Nigella arvensis</i> L.	Frutos
AJEDREA ó TOMILLO REAL	<i>Satureja hortensis</i> L.	Hojas
AJI	<i>Capiscum annum</i> L.	Fruto
AJO	<i>Allium Sativum</i> L.	Bulbo
AJONJOLI	<i>Seesamum indicum</i> L.	Semillas
ANIS ESTRELLADO	<i>Illicium anisatum</i>	Fruto
ANIS VERDE, ESPAÑOL, ANIS DE PAN, ANIS COMUN	<i>Pimpinella anisum</i>	Semilla
APIO	<i>Apium graveolens</i> L.	Tallo, hojas y semilla
AZAFRAN	<i>Crocus sativus</i> L.	Filamentos de color rojo-anaranjado provenientes de los estigmas desecados de la flor
CARDAMOMO	<i>Elettaria cardamomum</i> L.	Semillas
CANELA	<i>Cinnamomum zeylanicum</i> , <i>Cinnamomum cassia</i> <i>Cinnamomum burmanni</i> Blume <i>Cinnamomum loureiri</i> Nees	Corteza
CEBOLLA	<i>Allium cepa</i> L.	Bulbo
CLAVO DE OLOR	<i>Eugenia caryophyllus</i>	Fruto
COMINO	<i>Cuminum cyminum</i> L.	Frutos
CULANTRÓ, CILANTRO, CORIANDRO	<i>Coriandrum sativum</i> L.	Hojas y semillas
CURCUMA	<i>Curcuma longa</i> L.	Rizoma
ENELDO	<i>Anethum graveolens</i> L.	Hojas y semillas
ESTRAGON	<i>Artemisia dracunculoides</i> L.	Hojas
FENOSGRECO	<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	Frutos
HINOJO	<i>Foeniculum vulgare</i>	Hojas
ISHPINGO (FLOR DE LA CANELA)	<i>Ocotea quiros</i> L.	Flor
JENGIBRE	<i>Zingiber officinale</i> R.	Rizoma
LAUREL	<i>Laurus nobilis</i>	Hojas
MEJORANA	<i>Majorana hortensis</i> Moench	Hojas
MACIS	<i>Myristica fragans</i> H.	Envoltura o arilo que recubre la semilla de la nuez moscada <i>Myristica fragans</i> H.
MOSTAZA AMARILLA, MOSTAZA BLANCA	<i>Sinapis alba</i> <i>Brassica hirta</i> Moench	Semillas
MOSTAZA NEGRA ó MARRON	<i>Brassica nigra</i> L. <i>Brassica juncea</i> L.	Semillas
NUEZ MOSCADA	<i>Myristica fragans</i> H.	Semilla desecada de <i>Myristica fragans</i> H., desprovista totalmente de su envoltura (macis)
OREGANO	<i>Origanum vulgare</i>	Hojas
PIMENTÓN ó PAPRIKA	<i>Capiscum annum</i> L. <i>Capiscum frutescens</i> L. <i>Capiscum Longum</i> D. C.	Fruto
PEREJIL	<i>Petroselinum sativum</i> H. <i>Petroselinum crispum</i>	Hojas

(Continúa)

(Continuación)

PIMENTA BLANCA	<i>Piper nigrum</i> L.	Fruto maduro y seco, privado de la parte exterior de su pericarpio
PIMENTA NEGRA	<i>Piper nigrum</i> L.	Fruto incompletamente maduro y seco
PIMENTA DE CAYENA	<i>Capiscum frutescens</i> L. <i>Capiscum annuum</i> L.	Fruto
PIMENTA DE JAMAICA o PIMENTA DULCE	<i>Pimenta officinalis</i> B. o <i>Pimenta dioica</i> L.	Fruto
ROMERO	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Hojas
SALVIA	<i>Salvia officinalis</i> L. <i>Salvia lavandulacefolia</i> Walp.	Hojas
TOMILLO	<i>Thymus vulgaris</i> L. <i>Thymus egypti</i> L. <i>Thymus pulegioides</i> L.	Hojas
VAINILLA	<i>Vanillaplaniicola</i> A.	Fruto inmaduro, fermentado y desecado

* Esta lista no excluye la utilización de otras especias que hayan sido aprobadas como tales por la autoridad competente.

5.1.2 Las especias puras, deben cumplir los requisitos físico - químicos establecidos en la tabla 1

TABLA 1. Requisitos físico - químicos de las especias

ESPECIA	Humedad (NTE INEN 1114) Máx. %	Extracto etéreo fijo (ISO 1106) Min %	Cenizas totales (NTE INEN 1117) Máx %
ACHIOTE	13,0	4,0	5,0
ALBAHACA	12,0	--	16,0
ALCARAVEA CARAWAY	11,0	8,0	9,0
ALCARAVEA NEGRA, COMINO NEGRO, COMINO ALEMÁN	13,0	--	9,0
AJEDREA o TOMILLO REAL	11,0	--	10,0
AJI	10,0	15,0	8,5
AJO	9,0	0,5	7,0
ANIS ESTRELLADO	15,0	--	5,0
ANIS VERDE, ANIS ESPAÑOL, ANIS DE PAN, ANIS COMUN	13,0	8,0	10,0
APIO	10,0	10,0	10,0
AZAFRAN	15,0	3,5	8,0
CARDAMOMO	13,0	--	8,0
CANELA	14,0	0,8	6,0
CEBOLLA	9,0	0,5	5,0
CLAVO DE OLOR	15,0	15,0	8,0
COMINO	11,0	10,0	10,0
CULANTRO, CILANTRO, CORIANDRO	10,0	12,0	7,0
CURCUMA	10,0	7,0	8,0
ENEBRO	30,0	3,0	3,0
ENELDO	12,0	--	10,0
ESTRAGON	10,0	--	10,0
FENOGRECO	10,0	6,0	5,0
HINOJO	12,0	12,0	9,0
ISHPINGO (FLOR DE LA CANELA)	14,0	1,7	3,0
JENGIBRE	14,0	2,8	8,0
LAUREL	12,0	--	6,0
MACIS	17,0	16,0	3,0
MEJORANA	12,0	4,0	16,0
MOSTAZA AMARILLA; BLANCA	14,0	28,0	6,0
MOSTAZA NEGRA o MARRÓN	14,0	28,0	6,0
NUEZ MOSCADA	10,0	25,0	5,0
OREGANO	15,0	--	16,0
PEREJIL	11,0	2,0	7,0
PIMENTON o PAPRIKA	14,0	18,0	9,0

(Continúa)

PIMIENTA BLANCA	15,0	6,0	3,5
PIMIENTA NEGRA	14,0	5,5	7,0
PIMIENTA DE CAYENA	10,0	15,0	8,0
PIMIENTA DE JAMAICA o PIMIENTA DULCE	12,0	3,0	6,0
ROMERO	12,0	--	8,0
SALVIA	12,0	1,0	10,0
TOMILLO	12,0	--	12,0
VAINILLA	30,0	6,0	7,0

5.1.3 Requisitos microbiológicos

5.1.3.1 Las especias puras y los condimentos en polvo deben cumplir con los requisitos microbiológicos que se establecen en la tabla 2.

TABLA 2

Requisito	n	c	m	M	Método de ensayo
Aerobios Mesófilos REP UFC/g	5	3	10 ⁴	10 ⁴	NTE INEN 1529-5
Mohos y levaduras, UFC/g	5	3	10 ³	10 ⁴	NTE INEN 1529-10
Coliformes UFC/g	5	0	10 ²	10 ²	NTE INEN 1529-7
Escherichia coli NMP/g	5	0	<3	--	NTE INEN 1529-8
Escherichia coli UFC/g	5	0	<10	--	ISO 16649-2
Salmonella en 25 g	10	0	0	--	NTE INEN 1529-15

5.1.3.2 Los condimentos en pasta deben cumplir con los requisitos microbiológicos que se establecen en la tabla 3.

TABLA 3

Requisito	n	c	m	M	Método de ensayo
Aerobios Mesófilos REP UFC/g	5	2	1 000	10 000	NTE INEN 1529-5
Escherichia coli NMP/g	5	0	<3	--	NTE INEN 1529-8
Escherichia coli UFC/g	5	0	<10	--	ISO 16649-2
Mohos y levaduras, UFC/g	5	3	100	1 000	NTE INEN 1529-10
Salmonella en 25 g	10	0	0	--	NTE INEN 1529-15

5.1.3.3 En caso de muestra unitaria el límite de aceptación será el que se establece en "m"

5.1.4 La sal con especias debe tener una proporción de especia mínimo 10 % m/m o su equivalente de oleoresinas y/o aceite esencial, y de sal para consumo humano mínimo 50 %, mezcladas con agentes anticompactantes.

5.1.5 Aditivos

5.1.5.1 En el caso de las especias molidas, por efectos de tecnología de molienda, se permite adicionar carbohidratos, proteínas comestibles, anticompactantes, grasa o aceites comestibles, sal para consumo humano, en una proporción máxima de 5 %m/m, solos o en mezcla.

5.1.5.2 Se permite el uso de los siguientes aditivos en los condimentos

a) Acentuadores de sabor (excepto para especias, oleoresinas y aceites esenciales) los que establece la NTE INEN 2 074

b) Conservantes (para condimentos en pasta)

Aditivo	Límite máximo permitido mg/kg
Ácido benzoico y sus sales	1 000 solo o en mezcla
Ácido sórbico y sus sales	1250 solo o en mezcla

(Continúa)

c) Anticompactantes (sólo en condimentos y especias en polvo)

Aditivo	Límite máximo permitido en relación con el producto listo para el consumo, solos o en combinación y en relación con la materia seca g/kg
Dióxido de silicio amorfo	20
Esteres de aluminio, potasio, sodio, calcio, magnesio de los ácidos mirístico, palmítico o esteárico	20
Fosfato de tricalcio, aluminio o magnesio	20
Silicato de magnesio, silicato de calcio	25
Carbonato de magnesio	20

d) Antioxidantes para condimentos en pasta, oleoresinas, extractos solubles de especias y aceites esenciales

Aditivo	Límite máximo permitido en relación con el producto listo para el consumo, solos o en combinación y en relación con la materia seca mg/kg
Ácido L-ascórbico Ascorbato de calcio Ascorbato de sodio Ascorbato de potasio	1 000 (calculado como ácido ascórbico)
Álfa-tocoferol	50
Concentrado de mezclas de tocoferoles TBHQ, BHA, BHT, PG	50 200

e) Agentes emulsificantes, espesantes, estabilizantes para condimentos en pasta y extractos solubles de especias.

Aditivo	Límite máximo permitido en relación con el producto listo para el consumo, solos o en combinación y en relación con la materia seca g/kg
Agar	Limitado por PCF
Alginato de potasio y de sodio	3 000
Carboximetil celulosa (horma de celulosa)	4 000
Carragenina (incluye furcilarano)	5 000
Lecitina Mono y diglicéridos de ácidos grasos	Limitado por PCF
Almidones modificados: Fosfato de monoalmidón Fosfato de dialmidón Fosfato de Hidroxipropil dialmidón Fosfato de dialmidón fosfatado Fosfato de dialmidón acetilado Adipato dialmidón acetilado Almidón hidroxipropílico Dextrinas de almidón tostado blanco y amarillo Almidones tratados con ácido Almidones blanqueados Almidones tratados con enzimas Almidones oxidados Octenil succionato de almidón y sodio Pectina (no amidatada) Goma de semilla de algarrobo Goma guar Goma tragacanto	
Goma xantán	3 000

5.1.6 Contaminantes

5.1.6.1 Los límites máximos de contaminantes son los que se establecen a continuación

Contaminante	Límite máximo mg/kg
Arsénico, As	1,0
Plomo, Pb	2,0

(Continúa)

5.1.6.2 Los residuos de plaguicidas y sus metabolitos, no pueden superar los límites establecidos por el Codex Alimentario en su última edición.

5.2 **Requisitos complementarios.** El producto a comercializarse debe sujetarse con lo dispuesto en la Ley de Calidad

6. INSPECCIÓN

6.1 **Muestreo.** El muestreo debe realizarse de acuerdo a la NTE INEN-ISO 2859-1

6.2 **Aceptación o rechazo.** Se acepta el producto si cumple con los requisitos establecidos en esta norma, en caso contrario, se rechaza.

7. ENVASADO Y EMBALADO

7.1 El material del envase debe ser resistente e inerte a la acción del producto y no debe alterar las características del mismo.

7.2 El envase y el embalaje debe hacerse en condiciones que mantenga las características del producto y aseguren su inocuidad durante el almacenamiento, transporte y expendio.

8. ROTULADO

8.1 Rotulado debe cumplir con los requisitos establecidos en Reglamento Técnico Ecuatoriano RTE INEN 022

(Continúa)

APENDICE Z

Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1114	<i>Café soluble. Determinación de pérdida por calentamiento</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1117	<i>Café soluble. Determinación de cenizas totales</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-5	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de microorganismos aerobios mesófilos REP</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-7	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica de recuento de colonias.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-8	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación de coliformes fecales y E. coli.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-10	<i>Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de mohos y levaduras viables.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-15	<i>Control microbiológico de los alimentos. Salmonella. Método de detección</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2074	<i>Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano. Listas positivas. Requisitos</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN-ISO 2859-1	<i>Procedimientos de muestreo para inspección por atributos. Parte 1. Programas de muestreo clasificados por el nivel aceptable de calidad (AQL) para inspección lote a lote</i>
International Standard ISO 1108	<i>Spices and condiments - Determination of non-volatile ether extract</i>
International Standard ISO 16649-2	<i>Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive Escherichia coli -- Part 2: Colony-count technique at 44 degrees C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide</i>
Codex Alimentario CAC/MRL 1-2001	<i>Lista de Límites Máximos para Residuos de Plaguicidas</i>
Ley de Calidad Registro Oficial No. 26 de 2007-02-22	
Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura para Alimentos Procesados. Decreto Ejecutivo 3253, Registro Oficial 696 de 4 de Noviembre del 2002.	

Z.2 BASES DE ESTUDIO

Norma Técnica Colombiana NTC 4423	<i>Industria alimentaria. Especies y condimentos, Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Bogotá, 1998.</i>
Norma venezolana COVENIN 1539:1983	<i>Especies y condimentos afines. Requisitos 1ra. Revisión República de Colombia, Ministerio de Salud Resolución número 4241 de 1991 (9 de abril de 1991) Por el cual se definen las características de las especies o condimentos vegetales y se dictan normas sanitarias y de calidad de estos productos y de sus mezclas.</i>
Reglamento Sanitario de los Alimentos Título XXIII	<i>de las especias, condimentos y salsas. Chile 2007.</i>
Código Alimentario Argentino CAPITULO XVI	<i>CORRECTIVOS Y COADYUVANTES, Buenos Aires 2007.</i>
Code of federal Regulations Food and Drug Administration, 182 PART 182	<i>—Substances Generally Recognized AS SAFE 182.10 Spices and other natural seasonings and flavorings.</i>
European Spice Association Documento de Mínimos de Calidad de la Asociación Europea para las Especies.	<i>Adoptado en la Reunión Técnica y Empresarial 19 de noviembre de 2004.</i>
Secretaría de Comercio y Fomento Industrial Norma Oficial Mexicana NMX-FF-072-1990	<i>Alimentos - Especies y condimentos - Terminología</i>

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento: NTE INEN 2 532	TÍTULO: ESPECIAS Y CONDIMENTOS. REQUISITOS	Código: AL 02.05-409
------------------------------	--	-------------------------

ORIGINAL: Fecha de iniciación del estudio: 2009-04	REVISIÓN: Fecha de aprobación anterior del Consejo Directivo Oficialización con el Carácter de por Acuerdo Ministerial No. publicado en el Registro Oficial No. Fecha de iniciación del estudio:
--	---

Fechas de consulta pública: de _____ a _____

Subcomité Técnico: Especias y condimentos Fecha de iniciación: 2009-05-19 Integrantes del Subcomité Técnico:	Fecha de aprobación: 2009-08-05
--	---------------------------------

NOMBRES:	INSTITUCIÓN REPRESENTADA:
Dra. Rosa Rivadeniera (Presidenta) Dra. Rocio Mora Ing. Mirian Gaybor Ing. Verónica García	INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, QUITO ADITMAQ ALIMEC S.A. MINISTERIO DE SALUD, SUBSISTEMA ALIMENTOS CONDIMENSA
Ing. Walter Fajardo Ing. Lourdes Benítez Dra. Amada Godoy Ing. Carlos Alejandro Dra. Rosario Pizarro Dra. Loyde Triana	ESPOCH, FACULTAD DE SALUD PÚBLICA INDUSTRIA LOJANA DE ESPECIAS, ILE INDUSTRIA LOJANA DE ESPECIAS, ILE INDUSTRIA LOJANA DE ESPECIAS, ILE INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, GUAYAQUIL
Ing. María E. Dávalos (Secretaría Técnica)	INEN - REGIONAL CHIMBORAZO

Otros trámites:

El Directorio del INEN aprobó este proyecto de norma en sesión de 2009-11-27

Oficializada como: Voluntaria Registro Oficial No. 117 de 2010-01-27	Por Resolución No. 155-2009 de 2009-12-22
---	---

**Instituto Ecuatoriano de Normalización, IEN - Baquerizo Moreno ES-29 y Av. 6 de Diciembre
Cajilla 17-01-3000 - Telfs: (009 2) 2 601888 al 2 601891 - Fax: (009 2) 2 607016
Dirección General: E-Mail: direccion@ien.gov.ec
Área Técnica de Normalización: E-Mail: normalizacion@ien.gov.ec
Área Técnica de Certificación: E-Mail: certificacion@ien.gov.ec
Área Técnica de Verificación: E-Mail: verificacion@ien.gov.ec
Área Técnica de Servicios Tecnológicos: E-Mail: ienecati@ien.gov.ec
Regional Guayas: E-Mail: ienanguayas@ien.gov.ec
Regional Azuay: E-Mail: ienencuenca@ien.gov.ec
Regional Chimborazo: E-Mail: ienenobamba@ien.gov.ec
URL: www.ien.gov.ec**

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Escorza MQ, Salinas JC. La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. Rev. Educ. Bioquímica. 2009;5(2):89–101.
- [2] Mayor R., Estrés oxidativo y sistema de defensa antioxidante. Rev. Inst. Med. Trop. 2010;5(2):23–9.
- [3] Manzano P, García EP, Aguirre P, Tamayo E, Leon TO. Resultado de tamizaje fitoquímico y actividad antimicrobiana de *Mansoa alliacea* (LAN) A.H. Gentry; *Vanilla planifolia* y *Caryodendron orinocens* de procedencia ecuatoriana. Inf. Act. área bio Prod. 2010;
- [4] Bichara M, Oliveira J, Guilhon GMSP. The genus *Mansoa* (Bignoniaceae): a source of organosulfur compounds. Rev. bras. Farm. 2009;19(3).
- [5] Kember Mejia ER. Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonia Peruana. Segunda ed. Lima: Agencia Española de Cooperación Internacional; 200AD. p. 21. Available from: <http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/L017.pdf>
- [6] Rutter RA. Catálogo de plantas útiles de la Amazonia peruana. Tercera ed. Mary Ruth Wise, editor. Lima: Instituto Lingüístico de Verano; 2008. p. 8. Disponible en: <http://ftp.sil.org/americas/peru/pubs/ccp22.pdf>
- [7] IIAP. Plantas Medicinales de la Amazonia Peruana Estudio de su uso y cultivo. Primera ed. Loreto: Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana; 2000. p. 49.
- [8] Vega M. Etnobotánica de la Amazonía Peruana. Primera ed. Abya-Yala E, editor. Quito; 2001. p. 119–21. Disponible en: http://books.google.com/ec/books?hl=es&id=qj6-Do2Ci_0C&q=119#v=onepage&q=119&f=false
- [9] Catalogue of the Flowering Plants and Gymnosperms of Peru. Missouri Bot. Gard. 1980;v. 1+, 191:782. Disponible en: <http://www.tropicos.org/NamePublicationDetail.aspx?nameid=3701394>
- [10] Sáez J, Soto JP. Fitoquímica y valor ecológico del olor a ajo en los vegetales. Med. Natur. 2010;4:18.
- [11] Salgado ER. LAS RAMAS FLORIDAS DEL BOSQUE. Primera Ed. Iquitos; 2007. p. 17–9. Available en: <http://www.iiap.org.pe/cdpublicaciones2011/documentos/pdf/libros/6.pdf>
- [12] Jorge D, Ben F. Ingredientes funcionales de plantas ecuatorianas Introducción M.Amazonía ecuatoriana, 2006 :51–9.

- [13] Tránsito L. El ajo propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas. *Fitoterapia*. 2007;26:78–81. Disponible en: http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13097334&pident_usuario=0&pcontactid=&pident_revista=4&ty=102&accion=L&origen=zonadelectura&web=http://zl.elsevier.es&lan=es&fichero=4v26n01a13097334pdf001.pdf
- [14] Sayago A, Marín MI, Aparicio R, Morales MT. Vitamina E y aceites vegetales a) b). 2007;3495(1):74–86.
- [15] Febles CF, Soto C, Saldaña B, Triana A, García DBE. Funciones de la vitamina E. Actualización. *Scielo*. 2002;vol.39, n.28–32. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072002000100005
- [16] Valdés F. Vitamina C. *Unidad Dermatología*. Hosp. da Costa. Burela. Lugo. España. 2006;557–68.
- [17] Vásquez R. Sistemática de las plantas medicinales de uso frecuente en el área de Iquitos. *FOLIA Amaz.* [Internet]. 1992;A VOL. N° 65–80. Disponible en: http://www.iiap.org.pe/upload/publicacion/fofia4_1_articulo6.pdf
- [18] Gutiérrez W, Vílchez L, Pinto M, Alva Á. Identificación y formas de uso de plantas medicinales por los pobladores de las comunidades aledañas a la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNAP, Nina Rumi, San Juan Bautista. Loreto; 2010. p. 42–62. Disponible en: <http://200.48.67.60/menus/archivos/Conocimiento9.pdf#page=44>
- [19] Rainforest. “Ajo Sacha.” <http://www.rainforest-database.com/plants/mansoa.htm>; 2006. p. Septiembre 2013.
- [20] Grenand P, Moretti C, Jacquemin H, Prévost M-F. *Pharmacopées traditionnelles en Guyana: criollos, Palikur, Wayãpi*. Primera ed. Francia; 1987. p. 569.
- [21] Revilla. Oportunidades Económicas e Sustentáveis Manaus: Programa de Desenvolvimento Empresarial e Tecnológico. Conv. SOBRE EL Comer. Int. ESPECIES AMENAZADAS FAUNA Y FLORA SILVESTRES. 2001;CoP15 Prop:1–12.
- [22] Cadenas J. Olores. Definición y medición desodorización por la vía seca y húmeda biofiltros. Técnicas combinadas. *Fund. Biodivers*. Madrid; 2007. p. 1–17.
- [23] Miranda M, Cuellar A. *MANUAL DE PRACTICAS DE LABORATORIO FARMACOGNOSIA Y PRODUCTOS NATURALES*. Cuba; 2000. p. 1–48.
- [24] Miranda D, Carranza C, Rojas C, Jerez C, Fischer M. Acumulación de metales pesados en suelo y plantas de cuatro cultivos hortícolas, regados con agua del río Bogotá. *Rev. Colomb. Ciencias Hortícolas*. 2011;2(2).

- [25] Massaguer H. Factores que afectan a los Alimentos. Microbiol. Aliment. 2010 Nov;
- [26] Hernandez E. EVALUACIÓN SENSORIAL. Univ. Nac. Abierta y Adistancia. Bogota; 2005;1(Bogota):1–85.
- [27] Sacho J, Bota E, Castro J De. Introducción al Análisis Sensorial de los Alimentos. 1st ed. España: Universidad de Barcelona; 2002. p. 118–22.
- [28] Lou-Zhi-cen. Cecropia peltata L. (i) estudios farmacognósticos y de la composición de ácidos grasos libres. 1980;34(2):129–33.
- [29] WHO. Effect of drying methods on the phenolic constituents of meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) and willow (*Salix alba*). ELSEVIER. 1998;42(9):1468.1473.
- [30] Agustino E, LI R. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Horiz. Med. (Barcelona). 2008;8(1):56–72.