

**ESTUDIOS DE FARMACOTECNIA Y  
DESARROLLO DE FORMAS DE DOSIFICACIÓN  
DE VEGETALES DESHIDRATADOS PARA SU  
APLICACIÓN EN PEDIATRÍA Y PERSONAS DE  
LA TERCERA EDAD**



**DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y  
TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA  
UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**Tesis Doctoral**

**M<sup>a</sup> Dolores Romero de Soto**

**Granada, Julio de 2012**

Editor: Editorial de la Universidad de Granada  
Autor: María Dolores Romero de Soto  
D.L.: GR 183-2013  
ISBN: 978-84-9028-297-7



Dña. Beatriz Clares Naveros, Profesora Ayudante Doctor del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Universidad de Granada, Dña. Visitación Gallardo Lara, Profesora Titular del Departamentos de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y Dña. M<sup>a</sup> Adolfina Ruiz Martínez, Catedrática del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Universidad de Granada.

**CERTIFICAN:**

Que el trabajo de investigación que se presenta en esta memoria, titulado

**ESTUDIOS DE FARMACOTECNIA Y DESARROLLO DE FORMAS DE  
DOSIFICACIÓN DE VEGETALES DESHIDRATADOS PARA SU  
APLICACIÓN EN PEDIATRÍA Y PERSONAS DE LA TERCERA EDAD**

Ha sido realizado en el Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica bajo nuestra dirección, por la licenciada de Grado Dña. M<sup>a</sup> Dolores Romero de Soto, y constituye su tesis doctoral.

Con esta fecha autorizamos su presentación ante la Comisión Asesora de Doctorado de la Universidad de Granada.

Granada, 13 de Junio de 2012.

Fdo.: Dña. Beatriz Clares Naveros.

Fdo.: Dña. Visitación Gallardo Lara.

La doctoranda,

M<sup>a</sup> Dolores Romero de Soto

Fdo.: Dña. M<sup>a</sup> Adolfina Ruiz Martínez.



# ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	4
PARTE TEÓRICA.....	8
1. Nutrición en pediatría.....	9
2. Alimentos funcionales.....	16
3. Deshidratados vegetales.....	21
4. Capacidad antioxidante.....	26
5. Formas sólidas orales.....	35
5.1. Polvos.....	35
5.2. Granulados.....	39
5.3. Pastillas masticables.....	43
OBJETO Y PLAN DE TRABAJO.....	46
PARTE EXPERIMENTAL.....	50
MATERIAL.....	52
Elaboración de la formulación.....	78
Obtención de las formas farmacéuticas.....	80
Controles de las formas farmacéuticas.....	92
Tratamiento estadístico de los resultados.....	94
RESULTADOS.....	95
1. Características geométricas. Descripción física.....	96
4.1. Análisis granulométrico. Tamaño de partícula.....	96
4.2. Estudio morfológico. Forma de las partículas.....	108
4.3. Dimensiones.....	116
4.4. Características organolépticas.....	118
5. Características mecánicas.....	125
5.1. Resistencia a la fractura. Dureza.....	125

5.2. Resistencia mecánica. Friabilidad.....	128
6. Características reológicas.....	131
6.1. Volumen aparente.....	131
6.2. Capacidad de flujo.....	140
7. Características físico-químicas.....	144
7.1. Grado de humedad.....	144
7.2. pH.....	155
8. Indicadores biofarmacéuticos.....	158
8.1. Tiempo de disgregación.....	158
9. Características posológicas.....	165
9.1. Uniformidad de contenido.....	165
9.2. Uniformidad de masas.....	169
10. Características de estabilidad.....	175
10.1 Estudio microbiológico.....	175
10.2. Estudio nutricional.....	191
10.3. Determinación de la capacidad antioxidante.....	205
CONCLUSIONES.....	225
BIBLIOGRAFÍA.....	229

# **INTRODUCCIÓN**





### **INTRODUCCIÓN**

La desnutrición infantil es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad infantil, que incluye tanto fenómenos sociales como económicos (Gray y cols. 2006). La consecuencia de la malnutrición mantenida será niñas malnutridas, que serán madres malnutridas y darán a luz hijos con retraso mental, o con otros problemas. Aún naciendo sanos, los niños malnutridos tienen menor curiosidad por su entorno, menor motivación y capacidad de aprendizaje y esto limitará su desarrollo mental. Además, la debilidad del sistema inmunológico hace que las enfermedades crónicas y agudas les ataquen especialmente.

Esta situación es común en las zonas de alimentación insuficientes por falta de disponibilidad de los alimentos, inadecuado conocimiento de las técnicas alimentarias o de escasa higiene (Jehn y Brewis, 2009) aunque también puede presentarse debido a una dieta impropia e inadecuada.

No obstante, este hecho es poco frecuente en la sociedad occidental, aunque desgraciadamente deja de ser algo excepcional en los países en vías de desarrollo. (Campanozzi y cols. 2009)

El caso es que un tercio de la población mundial no puede desarrollar todo su potencial físico e intelectual debido fundamentalmente a la carencia de vitaminas y minerales, según indica el “Vitamin and Mineral Deficiency Reports”, este informe fue publicado en el 2009 durante el foro sobre la Iniciativa de Micronutrientes y ha sido desarrollado gracias a la colaboración de Agencia de Desarrollo Internacional Estadounidense (USAID), la Alianza Mundial para una Nutrición Mejorada (GAIN), la OMS, el Banco Mundial y UNICEF, the Flour Fortification Initiative, United States Agency International Development (USAID), Global Alliance for Improved Nutrition (GAIN), WHO, The World Bank y UNICEF. En el estudio se incluyen informes de evaluación por país que dibujan un panorama exhaustivo de las graves consecuencias que tiene la carencia de vitaminas y minerales en 80 países en desarrollo, como por ejemplo, la anemia, el cretinismo y la ceguera (Martínez, 1997). Pero además existen otros problemas causados por estas carencias, como:

- La deficiencia de hierro compromete el desarrollo intelectual en niños y está reduciendo el coeficiente intelectual en muchos países.

- La carencia de vitamina A afecta en los países en desarrollo al sistema inmunológico de aproximadamente el 40% de los niños menores de cinco años. Supone la muerte de un millón de niños y niñas cada año.

Se trata de micronutrientes vitales para una buena nutrición y salud humana, la promoción del desarrollo físico e intelectual (incluido el desarrollo del cerebro y del sistema nervioso), el desarrollo del esqueleto y el crecimiento, la función inmune y la función del ojo (Sanghvi y otros., 2007).

Las deficiencias de vitaminas y minerales pueden aparecer en situaciones de postoperatorio, tratamientos farmacológicos o tras una intensa actividad física o psicológica, pero la causa más inmediata está relacionada con la dieta. A este respecto los fines de la alimentación deberían estar orientados a:

- Cubrir necesidades energéticas, plásticas y reguladoras.
- Evitar carencias nutricionales.
- Promover correctos hábitos alimentarios entre la infancia y/o
- Prevenir posibles patologías causadas por una deficiente alimentación.

En este caso, la calidad y variedad de la dieta podría resolver la mayoría de deficiencias en vitaminas y minerales (Rao y Agarwal, 2000; Asplund, 2002; Johnson, 2004). Un consumo adecuado de verduras frescas podría aportar componentes esenciales como minerales, vitaminas, tales como C, E y A, fitoquímicos, como los folatos, glucosinolatos, carotenoides, flavonoides y ácidos fenólicos, el licopeno, el selenio y fibra dietética (Jiménez-Monreal y cols., 2009.). Además de estos componentes las verduras contienen una gran variedad de antioxidantes que pueden proteger contra el desarrollo de una serie de enfermedades causadas por el estrés oxidativo (Lampe, 1999), enfermedades cardiovasculares como la aterosclerosis, enfermedades inflamatorias como el asma, la artritis reumatoide, alergias, enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson, el Alzheimer y el cáncer (Agarwal y Rao, 2000; Van Poppel y Goldbohm, 1995).

Un estudio realizado sobre el consumo de frutas y hortalizas en 10 países subsaharianos africanos, de Ruel et al. (2005), mostró que ninguno de los países llegaron a la ingesta mínima diaria recomendada por la OMS / FAO. Asimismo, en los países desarrollados, los nuevos hábitos en la vida cotidiana han llevado al abandono de las prácticas de alimentación saludable y los desajustes o desequilibrios dietéticos están estrechamente

relacionados con las enfermedades crónicas emergentes como un problema grave de salud pública. Alimentar adecuadamente es algo más que proveer de alimentos suficientes para el crecimiento del cuerpo. En una alimentación adecuada intervienen, además de una buena selección de alimentos, la situación socio-familiar, hábitos y costumbres, educación, nivel cultural, etc (Smith y Haddad, 2001).

A pesar de las múltiples propiedades de los vegetales no podemos obviar que estos son alimentos perecederos, además hay que considerar la adaptación al momento fisiológico del niño lo que, a veces, obliga a la suplementación o a la modificación de la dieta habitual.

Frente a estas limitaciones, la deshidratación ofrece un medio para preservar los alimentos en unas condiciones estables y seguras, ya que reduce la actividad del agua y alarga la vida útil del alimento (Zhang et al., 2006). En este campo, precisamente, el déficit en verduras en dietas infantiles prevalecen sobre otros grupos de alimentos (Cervera y cols. 1993) y por ello los deshidratados vegetales podrían haber adquirido una gran importancia en su consumo y comercialización, básicamente por constituir una fuente importante en fibras, vitaminas hidrosolubles y la mayor parte de minerales y oligoelementos.

También parece que los recursos y las tecnologías necesarias para paliar estos problemas tienden por un lado al enriquecimiento de los alimentos de consumo regular, y por otro a la distribución de complementos vitamínicos y minerales. Fortificaciones con múltiples micronutrientes en polvo o condimentos enriquecidos se han propuesto como una intervención adecuada (Seal y Prud'hon, 2007). Además, el Comité Permanente de las Naciones Unidas sobre Nutrición ha sugerido la distribución de suplementos hasta grupos vulnerables (en particular los niños y las mujeres en edad fértil) con suplementos vitamínicos y minerales en forma de comprimidos, cápsulas y jarabes. Sin embargo una serie de problemas asociados con estas formas de dosificación ya han sido identificados, incluyendo la dificultad para tragar los comprimidos o cápsulas y la inestabilidad o la contaminación de jarabes. Por otro lado, la mayor o menor aceptabilidad de una formulación destinada a los niños está relacionada con la presentación y su sabor. En general, las formas de dosificación más 'adecuadas', en particular para los países en desarrollo, son formas flexibles o que puedan ser utilizadas para la preparación de formas líquidas orales (por ejemplo una suspensión o una solución).

Desde el punto de vista de la tecnología farmacéutica se postula sobre la idoneidad de algunas formas de dosificación farmacéuticas pediátricas, como pastillas de goma y granulados como vehículos para la ingesta de vegetales en los niños, proporcionando una mejora innovadora en la administración de contenido de micronutrientes de las verduras y frutas. En este contexto, parece evidente que la composición de los granulados, tanto buco-dispersables como efervescentes así como las pastillas de goma representan una importante alternativa para cumplir con la deficiencia de minerales y vitaminas en los niños, e incluso en pacientes mayores que no pueden tragar las formas sólidas de dosificación oral.

Sin embargo, las evidencias científicas son limitadas y poco se sabe sobre los procesos de deshidratación, características tecno-farmacéuticas o propiedades nutricionales de los deshidratados vegetales.

A la vista de lo anterior, en el presente trabajo se han abordado diferentes aspectos sobre este tema. La propuesta fue elaborar diferentes formas farmacéuticas, tales como un polvo elaborado con la mezcla de vegetales, así como granulado efervescente, granulado sacaruro y pastillas masticables. Se llevaron a cabo estudios sobre su obtención, caracteres organolépticos, reología, valor nutricional, actividad antioxidante y estabilidad, tanto de los vegetales deshidratados de partida como de las distintas presentaciones.

# **PARTE TEÓRICA**



## **1. NUTRICIÓN EN PEDIATRÍA**

La relación dieta-salud se inicia desde la etapa prenatal (Tormo y Martín, 2004) y ello justifica la importancia de un adecuado conocimiento de las necesidades nutricionales a lo largo de todo el período de crecimiento y desarrollo del ser humano. La ciencia de la nutrición debe aplicarse a partir de los momentos iniciales de la vida, lo que debe conducir a un mejor conocimiento de las enfermedades de la etapa adulta (Bueno, 2006).

La nutrición fue definida por Grande Covián como el conjunto de procesos mediante los cuales el organismo utiliza, transforma e incorpora en sus propias estructuras una serie de sustancias químicas que recibe del mundo exterior, formando parte de los alimentos, y elimina los productos de transformación de las mismas, con el objeto de cumplir tres finalidades principales: suministrar energía, construir y reparar estructuras orgánicas y regular los procesos metabólicos (Bueno y cols., 2007).

La nutrición infantil está sometida al potencial genético del individuo, así como a factores sociales, económicos y culturales. Cuando se modifica el equilibrio de estos factores, se ve alterada la nutrición, se interrumpe el crecimiento y desarrollo del niño, dando lugar a la desnutrición infantil.

En su mayoría, los países en vías de desarrollo viven con un régimen monótono basado en trigo, arroz, maíz, mijo los cuales no proporcionan por sí mismos o suficientes vitaminas y minerales. Además, es probable que contengan fitatos que inhiben la absorción de hierro.

El resultado es que millones de personas no son deficientes sólo en una sino en varias vitaminas y minerales esenciales tales como la vitamina B12, betacaroteno (precursor de la vitamina A), hierro, yodo, cinc, riboflavina y ácido fólico.

Esto significa que los programas diseñados para tratar sólo una deficiencia de micronutrientes, si bien pueden ser una parte necesaria de una estrategia global, son en sí mismos una respuesta incompleta (y esto es especialmente cierto bajo el hecho de que la falta de una vitamina o mineral pueden inhibir la absorción de otro). Mejorar y diversificar el alimento que se come es, por lo tanto, el enfoque más fundamental hacia el control de la deficiencia de vitaminas y minerales.



Es importante reconocer que los efectos de la desnutrición se valoran a corto y a largo plazo, aparecen enfermedades diarreicas, deshidratación, alteraciones hidroelectrolíticas, inmunodepresión, infecciones, pérdida de peso, trastornos cardiorrespiratorios, hematológicos y renales (Lozoff y cols., 2003). Más tardíamente aparecerán problemas de crecimiento y disminución del cociente intelectual (Algarin y cols., 2003). Los estragos que provoca la desnutrición que se padece en la infancia son los más lamentados por una sociedad, ya que en esta etapa el impacto lo sufre el cerebro del niño, en el que se producirían alteraciones metabólicas y estructurales irreversibles. La desnutrición en los primeros años de vida puede afectar al crecimiento del individuo, aunque es posible lograr posteriormente una mejoría en la talla, a través de una buena alimentación, ya que el niño continúa creciendo hasta los 18 años (Ortiz-Andrellucchi y cols., 2006).

Anteriormente se ha dicho que es importante tener en cuenta que alimentar adecuadamente es algo más que proveer de alimentos suficientes para el crecimiento del cuerpo (Gil y Sánchez de Medina, 2005). Efectivamente, frente a la desnutrición infantil en los países en vías de desarrollo, también existen casos de malnutrición en los países industrializados, aunque en este caso por causas muy diferentes.

Hoy en día hay tres veces más niños obesos que hace sólo 15 años. Las consecuencias de este avance pueden ser muy preocupantes, pero las soluciones existen: la clave está en modificar los hábitos. La causa de esta verdadera epidemia (que puede tener consecuencias muy negativas en el futuro) es, básicamente, el cambio de hábitos, y, sobre todo, en lo referente a la alimentación y el sedentarismo. Los niños, hoy en día, en gran parte por influencia de los padres (He y cols., 2010), abandonan el consumo de frutas, verduras, legumbres y pescado, en favor de la comida rápida, "chuches" y bollería (Bowman y cols., 2004). Por lo que respecta al sedentarismo, las actividades físicas tradicionales se están cambiando por la televisión y los videojuegos (Hamer y cols., 2009; Guthold y cols., 2010; Kelly y cols., 2010). Los peligros de esta tendencia son muchos, ya que puede suponer al niño problemas físicos (diabetes tipo II, hipertensión, triglicéridos y colesterol, trastornos hepáticos,...) y psicológicos (baja autoestima, estigma social,...). Pero quizá lo peor es que está fraguando una obesidad adulta, con estos mismos problemas, pero agravados (Reedy y Krebs-Smith, 2010). Y hasta tal punto es así, que la siguiente generación podría tener una esperanza de vida menor que la actual, como consecuencia de esta obesidad, a pesar de los avances

médicos en otros campos. Algunos estudios indican que la obesidad acorta la esperanza de vida en 13 años. Dado que casi todos los factores asociados a la obesidad infantil están relacionados con el estilo de vida, (excluyendo algunos casos poco comunes de patologías o factores genéticos), cambiando algunas costumbres podemos luchar eficazmente con este problema. Inculcar a nuestros hijos unos buenos hábitos alimenticios y fomentar su actividad física (deporte, juegos, paseos, excursiones,...) es fundamental para prevenir o remediar su obesidad, y de paso habremos hecho mucho para evitar que tengan sobrepeso de mayores (Brownell y cols., 2009; Ross y cols., 2010).

No obstante, es importante considerar la evolución de cada niño en particular, ya que si su ritmo de crecimiento siempre ha estado alejado de la curva media, no quiere decir necesariamente que sea anormal (Ballabriga y Carrascosa, 2006). Puede que sus características genéticas lo predispongan a ser más alto o más bajo que la mayoría, o más delgado o más gordo.

Una dieta sana y equilibrada para un niño debe estar constituida por alimentos variados y adecuados a la edad, gustos, hábitos y actividad física e intelectual del mismo, distribuida en intervalos variables, no menos de cuatro comidas al día (Martí-Henneberg, 2001). El aporte calórico debe ser adecuado para mantener el peso normal, para evitar tanto la malnutrición como la obesidad.

La base de una buena alimentación está asegurada consumiendo diariamente alimentos en la proporción que nos indica la pirámide de los alimentos.



**Figura 1.** Pirámide de los alimentos

Se debe realizar una buena selección de alimentos para asegurar una dieta equilibrada (Olivares y Bueno, 2006) y, de esta manera conseguir, lo mejor para la salud y el bienestar del niño.

Para una selección cuantitativa de los alimentos es necesario ayudarse de tablas de composición de alimentos. Hay que aportar a los niños unas cantidades acordes a su edad, raciones que aseguren el aporte que se establece en las recomendaciones dietéticas. Es decir, teniendo en cuenta las cantidades recomendadas, hay que calcular la cantidad de alimentos que las contienen y así, aseguramos el aporte adecuado.

Por otro lado, seleccionar cualitativamente los alimentos, supone elegirlos en las porciones adecuadas a cada comida, en número de veces suficiente para conseguir un aporte completo y de forma que estén representados todos los grupos de alimentos.

Para que una dieta sea equilibrada cualitativamente, deben formar parte de ella todos los grupos de alimentos: energéticos, plásticos o constructores y reguladores o protectores.

Sin embargo no siempre es posible cumplir con estos requisitos. Ante esto, las estrategias más inmediatas para combatir deficiencias en vitaminas y minerales, se han concentrado en la suplementación y fortificación.

La fortificación consiste en la adición de vitaminas y minerales a los alimentos o condimentos que se consumen de forma regular como por ejemplo, azúcar, sal, margarina, aceite y salsas. Por su parte la suplementación consiste en hacer llegar a los grupos vulnerables (en particular, niños y las mujeres en edad fértil) suplementos vitamínicos y minerales en forma de comprimidos, cápsulas y jarabes.

Adicionalmente a estas acciones se ponen en práctica otras estrategias que resumimos a continuación:

**Educación:** Informar al público sobre la necesidad de los suplementos o alimentos fortificados, y sobre los tipos de alimentos que pueden aumentar la ingesta y absorción de vitaminas y minerales.

**Control de enfermedades** como la malaria, el sarampión, la diarrea y parásitos. Sin embargo cada una de estas soluciones presenta sus propias complejidades y dificultades, no siendo ninguna de ellas completa en sí misma. De hecho habría que aplicarlas de forma simultánea y de acuerdo a la particular necesidad de cada individuo y país.

A la hora de conseguir una alimentación adecuada además de realizar una buena selección de alimentos, es importante también tener en cuenta factores como la situación socio-familiar, hábitos, costumbres, educación, cultura, etc.

Por tanto se puede decir que la nutrición está integrada por un complejo sistema en el que interaccionan el *ambiente* (que influye en la selección de alimentos, frecuencia de consumo, tipo de gastronomía, tamaño de las raciones, horarios, etc.), el *agente* (agua, energía y nutrientes) y el *huésped* (es decir, el niño con sus características fisiológicas) (Moñino y cols., 2009).

Si en el adulto la nutrición tiene por objeto el mantenimiento de las funciones vitales y la producción de energía en su sentido más amplio, en el niño adquiere una dimensión mayor, al ser el factor determinante del crecimiento e influir de forma importante en el desarrollo (maduración funcional).

#### **- Factores ambientales:**

Los factores ambientales están influidos por la oferta de alimentos y su publicidad, los hábitos familiares, escolares y sociales, la cultura gastronómica, los estilos de vida, la

economía y, actualmente en menor proporción, por la religión o el clima (Kümpel-Norgaard y Brunso, 2009).

Desde la revolución industrial la producción de alimentos dejó de ser un factor limitante en la alimentación de la humanidad, pero en los últimos años los cambios sucedidos con la globalización de la industria y mercado agroalimentarios han sido espectaculares. En la actualidad la oferta de alimentos es ilimitada, sin temporalidad, de cualquier procedencia geográfica y apoyada en una importante propaganda que incita a su consumo, especialmente en la población infantil, más vulnerable a la presión del *marketing*. Junto a ello los cambios en la estructura familiar, la incorporación de la mujer al mercado laboral y la urbanización de la sociedad propician el consumo de alimentos modificados (congelados, liofilizados, cocinados o precocinados, suplementados o con eliminación de algún componente, etc.).

La globalización actual también afecta a los estilos de vida en los que predomina el sedentarismo, favorecido por la mecanización del trabajo, la facilidad del transporte, la dificultad de los juegos al aire libre y el ocio sedentario ligado a la televisión y a las nuevas tecnologías de la información. La actividad física, tanto espontánea como programada, ha disminuido hasta límites mínimos en la mayoría de los niños.

#### **- El agente:**

El agente de la nutrición son los nutrientes contenidos en los alimentos. Hace ya décadas que se precisaron las recomendaciones en macro y micronutrientes, siendo la experiencia de la nutrición parenteral la que determinó finalmente el número, las interrelaciones y las necesidades de cada uno de ellos. Sin embargo, en los últimos años se han descubierto componentes de los alimentos que, independientemente de su valor nutricional, intervienen en la mejoría de las funciones fisiológicas o previenen enfermedades. Los polifenoles del vino tinto fueron los primeros identificados, y a partir de ellos se han ido incorporando una larga lista: licopeno (contenido en el tomate y frutos rojos), isoflavonas y fitoesteroles (soja), compuestos organofosforados (ajo, cebolla),  $\beta$ -glucanos (avena), indoles, isocianatos (coles, brócoli), carotenoides (zanahoria), ácidos grasos  $\gamma$ -3 (pescados) etc.

En la actualidad la preocupación de la población en los países industrializados ha ido cambiando de la búsqueda de alimentos suficientes y seguros a la de alimentos saludables y, más recientemente, de los funcionales. Estos últimos se definen como

alimentos naturales o modificados que contienen ingredientes alimenticios que, con independencia de su valor nutricional, aportan efectos beneficiosos en las funciones fisiológicas (entre las que se encuentran el crecimiento y desarrollo), o para la prevención de enfermedades. Un aspecto importante es intentar que sean consumidos dentro de la dieta habitual. Hacer la compra de alimentos en la actualidad supone tener un bagaje de conocimientos que el pediatra debe conocer para orientar a las familias y a los propios niños, cada vez más autosuficientes en sus elecciones alimentarias.

**- El huésped:**

Es fundamental conocer las características del crecimiento y desarrollo del niño, factores condicionantes de sus peculiares necesidades alimenticias. Simplemente señalar que, en la importante preocupación por la alimentación del niño en la sociedad actual, son muchos los profesionales implicados, de tal manera que se diseñan estrategias que favorezcan esta nutrición óptima (Suárez, 2007; Gould y cols, 2006).



## 2. ALIMENTOS FUNCIONALES

El interés de los responsables de la salud pública y de los consumidores por conocer la relación entre dieta y salud ha aumentado considerablemente en los últimos años ya que, según los expertos en salud, la mejor manera de prevenir ciertas enfermedades y asegurar una buena salud es seguir una dieta sana, variada y equilibrada (Drichoutis y Lazaridis, 2005). Sin embargo, los nuevos estilos de vida han provocado que se abandonen determinados hábitos de alimentación saludables. En la sociedad actual, los desequilibrios y desajustes alimentarios están relacionados con la aparición de un gran número de enfermedades. La falta de tiempo para cocinar y el ritmo de vida actual conducen a que muchas personas no sigan una alimentación equilibrada y, por tanto, no ingieran todos los nutrientes o las cantidades adecuadas que necesitan. (Guía de alimentos funcionales). Como consecuencia de esta situación, hemos pasado del concepto de “*nutrición adecuada*” al de “*nutrición óptima*”, es decir, aquella que no sólo aporta las necesidades energéticas y nutricionales básicas, sino que también aporta beneficios fisiológicos adicionales.

La nutrición, como ciencia, estudia la relación entre salud y alimentación (Martí y cols., 2005). En este sentido, se han diseñado combinaciones cuyo objetivo es suministrar al organismo los nutrientes necesarios en función de la situación fisiológica (Palanca y cols., 2006; Sánchez Muñoz y cols., 2005). Profundizando más en este tema, durante las últimas décadas se han publicado numerosos trabajos que han puesto de manifiesto la relación entre la dieta y la incidencia de enfermedades crónicas, por lo que resulta más evidente que el aporte de vitaminas y minerales desempeñe un papel fundamental en el mantenimiento e, incluso, en la mejora del estado de salud.

En este contexto surgen los *alimentos funcionales*, que pueden compensar los desequilibrios alimentarios y garantizan la ingesta de nutrientes recomendada por los especialistas en nutrición (Roberfroid, 2001), constituyendo un mercado en expansión y uno de los principales impulsores del desarrollo de nuevos productos (Juarez y cols., 2005).

El término alimento funcional fue usado por primera vez en Japón en la década de los años ochenta, cuando las autoridades sanitarias tomaron conciencia de que para controlar los gastos en salud era necesario desarrollar alimentos que mejoraran la calidad de vida de la población. Los denominaron **FOSHU** (Foods for specified health



use, alimentos para uso específico de salud). Realmente surgieron con el propósito de controlar los gastos sanitarios, generados por la mayor esperanza de vida de la población anciana, así los alimentos serían una vía para mejorar la salud de sus ciudadanos. Estos FOSHU se desarrollaron específicamente para consumirlos como parte de una dieta normal (Mazza, 1998).

Históricamente, el objetivo de la nutrición ha sido conseguir una dieta equilibrada que permita igualar la demanda de energía que el organismo necesita, con el gasto, utilizando para ello los distintos nutrientes, pero en la actualidad, la ciencia de la nutrición ha ampliado su campo en la búsqueda de alimentos que además de los nutrientes básicos aporten otros componentes “los funcionales” que mejoren el estado de salud y/o reduzcan el riesgo de padecer algunas enfermedades, especialmente las llamadas degenerativas, como enfermedades cardiovasculares, diabetes, obesidad, hipertensión, algunos tipos de cáncer, osteoporosis e infecciones gastrointestinales (Ares y cols, 2008).

Ya desde la antigüedad a los alimentos se les ha atribuido efectos beneficiosos sobre la salud y está demostrado que seguir una dieta equilibrada ayuda a mantener un estado de salud óptimo.

Hoy día, todavía no existe realmente consenso a nivel mundial sobre la definición de alimento funcional o sobre su legislación. Ni siquiera en el término empleado para su descripción. Esto ha dado lugar a una amplia gama de términos que se manejan, además de la de alimentos funcionales, que conlleva una gran confusión no sólo entre los consumidores, sino también entre los profesionales (Bello J. 1995):

- **Alimentos de diseño.** Alimentos procesados que son suplementados con ingredientes alimentarios naturales.
- **Nutracéuticos.** Producto aislado o purificado de un alimento que se comercializa en formato médico (píldora, cápsula, polvo).
- **Suplemento alimenticio.** Producto aislado o purificado de un alimento que se comercializa en formato alimentario (barritas, batidos).
- **Alimento fortificado.** Alimento al que se le añade un compuesto fitoquímico o fitonutriente con la finalidad de conseguir efectos preventivos.

- **Fitoquímico.** Componente biológicamente activo que existe de manera natural en la planta pero que no se considera nutriente (reveraastrol).
- **Fitonutriente.** Componente químico de los vegetales con conocidas propiedades nutricionales (betacaroteno).
- **Probiótico.** Lactobacilos, bífidobacterias y algunas levaduras que ejercen efectos beneficiosos sobre la función intestinal.
- **Prebiótico.** Oligosacáridos no digeribles que van a permitir el desarrollo de la flora autóctona y mejorar el tránsito intestinal.

Un alimento se considera funcional si además de las cualidades nutricionales habituales, cumple una serie de requisitos:

- Debe proporcionar un efecto beneficioso sobre el estado de salud físico o mental y/o una disminución del riesgo de padecer algunas enfermedades.
- Los citados efectos sobre la salud deben estar demostrados científicamente.
- El componente alimentario responsable de esos efectos debe estar perfectamente identificado, caracterizado y cuantificado por métodos analíticos.
- Debe ser efectivo en todos los miembros de la población o grupo específico a que se refiera.
- Debe tratarse siempre de un alimento en su forma natural y no en forma de polvo, comprimido, cápsulas...
- Las cantidades necesarias del alimento para producir los efectos descritos deben ser las habituales en un patrón normal de alimentación (La Torre y cols., 2005)

La dieta, particularmente las frutas, vegetales, frutos secos y bebidas procedentes de frutas y vegetales, aportan una fuente de antioxidantes como vitaminas y otros fitoquímicos, los cuales son una importante fuente exógena capaz de aumentar la respuesta celular al estrés oxidativo (Foster y cols., 2005). Más de 2000 estudios epidemiológicos muestran que la mayoría de los efectos protectores contra una variedad de enfermedades, están correlacionados con una alta ingesta de frutas y verduras (Ros, 2008). A fin de obtener principios activos inocuos y eficaces, se ha intensificado la búsqueda de fitoquímicos de origen vegetal cotidianos en la dieta, que además de

aportar nutrientes contienen compuestos bioactivos beneficiosos para la salud (Drago y cols., 2006)

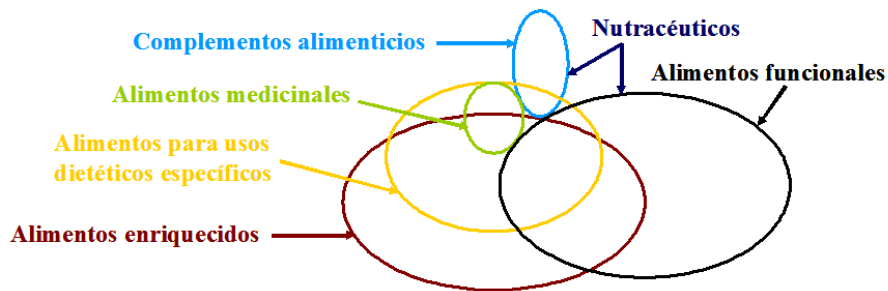
Los alimentos funcionales cada día ganan más protagonismo en el mercado (Reglero, 2006). Los consumidores, abrumados por un cambio en las políticas de marketing de las empresas dedicadas al mundo de la alimentación, a menudo optan por esos “nuevos productos”. Lo que si es evidente es que su consumo no sustituye la necesidad de una alimentación sana, variada y equilibrada, que continúa siendo necesaria, así como unos hábitos de vida saludables, que incluyan la práctica regular del ejercicio físico.

Los avances técnicos en la agricultura y en la industria alimentaria son motores importantes para la búsqueda de alimentos de diseño, con los que satisfacer a los ciudadanos.

En Europa, el primer documento consensuado sobre conceptos científicos en relación con los alimentos funcionales fue elaborado en 1999 por un grupo de expertos coordinados por el ILSI (International Life Sciences Institute), según el cual un alimento funcional es aquel que contiene un componente, nutriente o no nutriente, con efecto selectivo sobre una o varias funciones del organismo, con efecto añadido por encima de su valor nutricional y cuyos efectos positivos justifican que pueda reivindicarse su carácter funcional o incluso saludable, es decir, establece que un alimento puede ser considerado funcional si se ha demostrado de forma satisfactoria que posee un efecto beneficioso sobre una o varias funciones específicas del organismo, más allá de los efectos nutricionales habituales, siendo esto relevante para la mejora de la salud y el bienestar y/o la reducción del riesgo de enfermar. Los efectos positivos pueden ser tanto por su contribución al mantenimiento del estado de la salud y bienestar, como por la reducción del riesgo de padecer una determinada enfermedad. Es importante tener en cuenta que los alimentos funcionales no dejan de ser alimentos y deben demostrar sus efectos en las cantidades que se consideren normales para su consumo en la dieta. El concepto de alimento funcional tal y como lo define el ILSI está internacionalmente aceptado aunque existen diferencias entre algunos países debido principalmente a las diferencias culturales (Kwak y Jukes, 2001).

Por otro lado, la industria y los investigadores han usado términos similares para centrar el interés en las características de su propio producto. Además, existen una serie de términos legales cuyo ámbito se superpone con el de los alimentos funcionales. Entre estos términos se encuentran los alimentos: para usos dietéticos específicos,

medicinales, enriquecidos, saludables (naturales, orgánicos, dietéticos), alimentos nuevos y complementos alimenticios y nutraceuticos. Los cinco factores que diferencian unos términos de otros son: la propia naturaleza del alimento, el efecto esperado sobre la salud, la forma en que se encuentra, a quien va dirigido y su procesado (Kwak y Jukes, 2001). En la siguiente figura se representa la relación que existe entre algunos de ellos:



**Figura 2.** Relación entre algunos de los términos referentes a alimentos que incrementan la salud.

En el real decreto RD 1275/2003 se definen los complementos alimenticios como aquellos productos alimenticios cuyo fin sea complementar la dieta normal, consistentes en fuentes concentradas de nutrientes o de otras sustancias que tengan un efecto nutricional o fisiológico, comercializados de forma que permitan una dosificación determinada del producto. Se distinguen claramente de los alimentos funcionales ya que son complementos de la alimentación y no sustitutivos de ésta y en su forma son más parecidos a los medicamentos.

El término *nutracéuticos* es típico de las industrias farmacéutica y médica y se refiere a los alimentos o parte de los mismos que proporcionan beneficios para la salud incluyendo la prevención y/o tratamiento de enfermedades. Este término engloba tanto a los complementos alimenticios como a los alimentos funcionales (Arvanitoyannis y Houwelingen-Koukaliaroglou, 2005).



### **3. DESHIDRATADOS VEGETALES**

#### **Definición.**

La deshidratación es uno de los métodos más antiguos de conservación de los alimentos y representa un aspecto muy importante en el tratamiento de muchos alimentos (Lin y cols., 1998).

Un deshidratado vegetal es aquel que mediante una serie de operaciones de Tecnología Farmacéutica General, tales como deshidratación y pulverización, es transformado en un sólido pulverulento, el cual sigue manteniendo todas las propiedades nutricionales que lo caracterizan. Esta operación de obtención del deshidratado vegetal consiste en extraer artificialmente la mayor parte de la humedad natural, tratando de conservar en la medida de lo posible su color, aroma y sabor original, y su calidad alimentaria (Koca y cols., 2007).

Las verduras desecadas o deshidratadas no presentarán un contenido en agua superior a 7% determinada a 100/105°C (AOAC, 1980).

Los alimentos deshidratados siempre han sido utilizados para consumo directo en épocas de escasez, sin embargo actualmente están siendo muy utilizados para la formulación de otros tipos de alimentos, ya sea como ingredientes de alimentos funcionales, bocadillos, productos lácteos, desayunos integrales, barras de cereales o como parte de alimentos con componentes prebióticos o probióticos. No obstante, gran parte de los alimentos deshidratados se deben rehidratar en soluciones determinadas como agua, entre otras, antes de ser consumidos.

El agua es el principal componente de los alimentos, ayudándoles a mantener su frescura, sabor, textura y color. Además de conocer el contenido de agua o humedad de un alimento, es imprescindible conocer si ésta está disponible para ciertas reacciones bioquímicas, enzimáticas, microbianas, o bien interactuando con otros solutos presentes en el alimento, como son, proteínas, carbohidratos, lípidos y vitaminas.

Esta técnica de conservación trata de preservar la calidad de los alimentos bajando la actividad de agua ( $a_w$ ) mediante la disminución del contenido de humedad, evitando así el deterioro y contaminación microbiológica de los mismos durante el almacenamiento (Marín y cols., 2006; Krokida y Marinos-Kouris, 2003).

**Métodos de deshidratación.**

Se entiende por hortalizas desecadas o deshidratadas las que se obtienen eliminando la mayor proporción de agua por una corriente de aire caliente o en estufas apropiadas.

Es un proceso artificial industrial para vegetales frescos, en el que se recrean los procesos que ocurren en la naturaleza. El proceso de deshidratado se centra en la extracción de humedad mediante corrientes de aire caliente seco controladas, dirigidas y sostenidas, a diversas temperaturas y velocidad dependiendo del tipo de producto.

Desde los tiempos más antiguos se ha venido empleando, para la conservación de la fruta, el sistema de la desecación natural, método basado en el aprovechamiento del calor solar y del viento, y que todavía se practica en la actualidad a pesar del progreso de la mecánica y de las ciencias biológicas y de la alimentación. Este progreso es el que permite hoy en día obtener hierbas aromáticas desecadas en excelentes condiciones, y, desde luego, mucho mejor que las conseguidas con el sistema primitivo.

El deshidratado de frutas y vegetales es una tarea sencilla, pero requiere de tiempo y exposición a los agentes que arrastran el agua y humedad contenida en las fibras orgánicas. Esto depende de la cantidad de agua, del tamaño, del entrecruzamiento de la trama material del cuerpo a deshidratar, del espesor del cuerpo, de la permeabilidad o capilaridad de los elementos a deshidratar, y de la velocidad, sequedad, la constante temperatura y las necesarias renovaciones del aire de la solera del horno que circula en la superficie a desecar.

La deshidratación o desecación ocurre siempre que la presión del vapor del producto es mayor que la presión del vapor del aire de los alrededores del mismo; la rapidez de la pérdida de humedad del producto es proporcional a la diferencia entre las presiones del vapor y el área de superficie expuesta del producto. La diferencia de presión del vapor entre el producto y el aire de secado de los alrededores es principalmente función de la humedad relativa y de la velocidad del aire. En definitiva con baja humedad relativa del aire y alta velocidad será mayor la pérdida de humedad del producto.

Para ello se pueden utilizar varios métodos de deshidratación o combinación de los mismos, tales como secado solar, aire caliente, microondas, liofilización, atomización, deshidratación osmótica, entre otros. No obstante, para obtener alimentos deshidratados de buena calidad es imprescindible estudiar en detalle los fenómenos de transferencia de materia y energía involucrados en el proceso, como los cambios producidos a nivel

estructural (porosidad, firmeza, encogimiento, densidad) y las reacciones bioquímicas que se llevan a cabo en el momento del proceso (oxidación, enzimáticas, no enzimáticas, desnaturalización) (Marín y cols., 2006).

### **Ventajas de los deshidratados vegetales.**

En la actualidad empieza a tener relevancia el uso de alimentos deshidratados, debido a que estos pueden ser utilizados:

- Después de mucho tiempo de su cosecha.
- Sin necesidad de cadena de frío.
- Conservan la mayor parte de sus cualidades naturales

Desde el punto de vista comercial una importante ventaja de utilizar esta técnica, es que al convertir un alimento fresco en uno procesado (deshidratado) se añade valor agregado a la materia prima utilizada. Además se reducen los costos de transporte, distribución y almacenaje debido a la reducción de peso y volumen del producto en fresco.

Hoy en día, muchos alimentos deshidratados sirven de base para el desarrollo y formulación de nuevos productos, ya que son fuentes de proteínas, vitaminas, minerales, fibra dietética y antioxidantes, y por tanto son considerados como componentes o ingredientes de alimentos funcionales, debido a su fácil incorporación en productos lácteos (leches, postres, yogurt, helados), galletas, pasteles, sopas instantáneas y en platos preparados.

Los alimentos deshidratados deben en lo posible rehidratarse lo más rápido posible y mostrar las mismas características estructurales y químicas del alimento fresco, como también sus propiedades nutricionales y sensoriales (Marín y cols., 2006).

La desecación reduce en gran medida el peso de los vegetales, como valores comunes, por ejemplo el del perejil, en que el peso seco llega a un 10% del peso húmedo del material. Esta enorme diferencia de peso, y la posibilidad de conservación, son los dos determinantes principales que pueden aconsejar una desecación industrial en zonas de gran producción, con objeto de economizar en los gastos de transporte y evitar la baja de precios en las temporadas de recolección. Así como la posibilidad de su distribución en países sin posibilidades para una conservación adecuada.



**Inconvenientes de los deshidratados vegetales**

Los procedimientos empleados tan sólo unos años atrás para la deshidratación de vegetales eran bastante imperfectos, dando como resultado productos de muy mediocre calidad, en particular desde el punto de vista del sabor y coloración.

Mediante intensas investigaciones de laboratorio, se ha podido comprobar que la causa determinante de este cambio de sabor hay que localizarla en la oxidación de las materias grasas y albuminoides contenidas en los tejidos vegetales, causadas por el daño que le produce la humedad remanente en el producto. Asimismo, se ha podido comprobar que, para impedir que tales oxidaciones se produzcan, o para contenerlas dentro de límites convenientes, es preciso determinar con exactitud, y para cada género, cuál ha de ser su temperatura óptima de desecación, así como el tiempo de duración de ésta. Establecido este punto, sobre la base de una experimentación científica rigurosa, resulta entonces posible la desecación industrial con resultados completamente satisfactorios.

Estas degeneraciones en los vegetales desecados pueden estar determinadas por agentes biológicos, los microbios y las enzimas o diastasas; asimismo los agentes químicos, como el oxígeno y el agua, y los físicos como el calor y la luz. De todos ellos los más perjudiciales son los biológicos, los cuales son potenciados por la presencia de agua en el producto.

Estas investigaciones resultan entonces de gran importancia para obtener una desecación satisfactoria de hortalizas, tanto por lo que a calidad se refiere, como por lo que atañe a la necesaria disminución del coste en la producción, ya que la conservación por desecado tiene como finalidad primordial la de permitir el consumo de un alimento determinado durante las épocas en que no es posible fresco, o sólo se consigue a base de un dispendio excesivo.

Como norma general se puede mencionar la conveniencia, para una desecación económica, de un secado parcial al aire de las hortalizas y frutas en cuestión. Con el fin de limitar el contenido de humedad a un valor lo menor que sea posible, pero que tampoco exceda un límite de desecado, ya que para lograrlo se requiere una mayor energía (mayor costo), y puede dar como resultado un producto de inferior calidad, en efecto, reseca un vegetal hace la planta muy frágil.

Es importante conocer la textura de las frutas y verduras no solo con el objetivo de establecer un sistema de control de calidad para su recepción y durante su

procesamiento, sino para satisfacer las preferencias de los consumidores. Las frutas y verduras sufren modificaciones en su textura durante el proceso de maduración, así como en la recolección, transporte y almacenamiento de las mismas y posteriormente en el procesamiento, en operaciones tales como limpieza, clasificación, rebanado o picado, escaldado y finalmente deshidratación, enlatado, fritura o congelación. Los cambios en textura producidos durante el proceso de maduración se deben a cambios bioquímicos, al igual que los ocurridos durante el almacenamiento, mientras que los cambios producidos durante la recolección, transporte y procesamiento se deben, principalmente, a alteraciones en la estructura celular del producto (Aguilar y cols., 1999). Bourne en 1994 opinó que los mayores daños provocados durante el procesamiento se deben a los tratamientos térmicos (Bourne, 1994).



#### **4. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE**

##### **Daño oxidativo.**

Asociado a las condiciones de vida aerobia, el oxígeno, es el responsable del mantenimiento del metabolismo y vitalidad celular (Davis, 1995), y al mismo tiempo, entraña un peligro potencial para el organismo, ya que promueve la formación de intermediarios dotados de una alta reactividad, conocidas como especies reactivas del oxígeno (ROS, del inglés "Reactive Oxygen Species") (González, 2001). Muchas especies reactivas del oxígeno son radicales libres.

H. Sies, en 1985, propuso el concepto de «daño o estrés oxidativo» como un desequilibrio, en el que hay un aumento de oxidantes o una disminución de antioxidantes, en comparación con la situación definida como normal. Como consecuencia se dan alteraciones de la relación estructura-función en cualquier órgano, sistema o grupo celular especializado; se produce un mecanismo general de daño celular (Kaliora, 2006). Los radicales libres producen al azar un daño acumulativo en las macromoléculas biológicas, que conduce a una disminución de las funciones vitales y al envejecimiento.

Un radical libre se define como cualquier especie química, cargada o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado en su orbital más externo, lo que hace que sean moléculas inestables y altamente reactivas (Venereo Gutiérrez, 2002). Para conseguir una configuración electrónica estable, los radicales libres, capturan electrones de otras sustancias formando así, otro radical libre y dando lugar a una reacción en cadena que dañará multitud de células y puede ser definitiva si los antioxidantes no intervienen.

Esta elevada reactividad implica que pueda reaccionar con todo tipo de moléculas vecinas, ya sean lípidos, proteínas, glúcidos o ácidos nucleicos.

Los procesos normales del organismo producen radicales libres como el metabolismo de los alimentos, la respiración y el ejercicio. También estamos expuestos a elementos del medio ambiente que crean radicales libres como la polución industrial, tabaco, radiación, medicamentos, aditivos químicos en los alimentos procesados, pesticidas, etc, haciendo insuficientes las defensas endógenas y provocando que la protección dependa de la ingesta de los antioxidantes derivados de la dieta, antioxidantes exógenos (Buettner y Jurkiewicz, 1996). Sin embargo no todos son nocivos, las células del

sistema inmune crean radicales libres que atacan a bacterias y virus, pero si no hay un control (ejercido por los antioxidantes), las células sanas pueden ser dañadas.

Existen algunas moléculas que tienen oxígeno y que no son radicales, que participan de forma activa en las reacciones de los radicales libres sobre los sistemas biológicos.

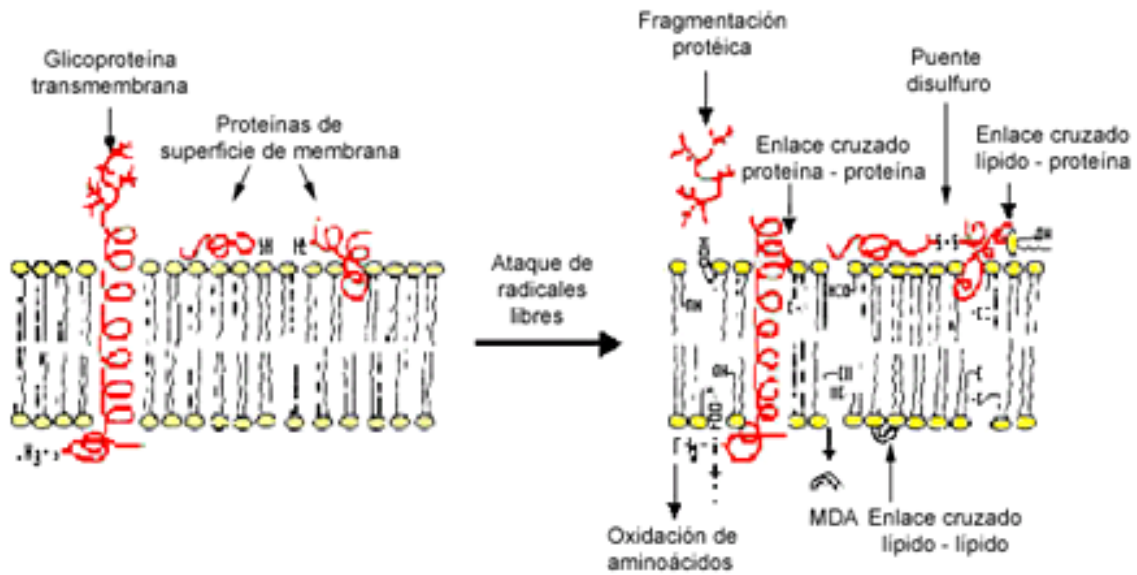
Para englobar todos estos compuestos derivados del oxígeno, radicales y no radicales, se ha creado el término “especie reactiva de oxígeno” (Halliwell, 2006). Así pues, entre las especies reactivas de oxígeno se encuentran:

- Radicales: El ión-radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), y los radicales hidroxilo ( $\bullet OH$ ), alcoxilo ( $RO\bullet$ ), peroxilo ( $ROO\bullet$ ) y óxido nítrico ( $NO\bullet$ ).
- No radicales: Peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), ozono ( $O_3$ ), hidroperóxido ( $ROOH$ ), ácido hipocloroso ( $HOCl$ ), oxígeno singulete ( $^1O_2$ ) y peroxinitrilo ( $ONOO^-$ ).

El organismo, ante el estrés oxidativo, responde con la defensa antioxidante endógena, mediante enzimas antioxidantes como la catalasa, la superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y la coenzima Q, pero que, en determinadas ocasiones, puede ser insuficiente. Los antioxidantes endógenos son absolutamente críticos para un mantenimiento óptimo de las células, la salud y el bienestar.

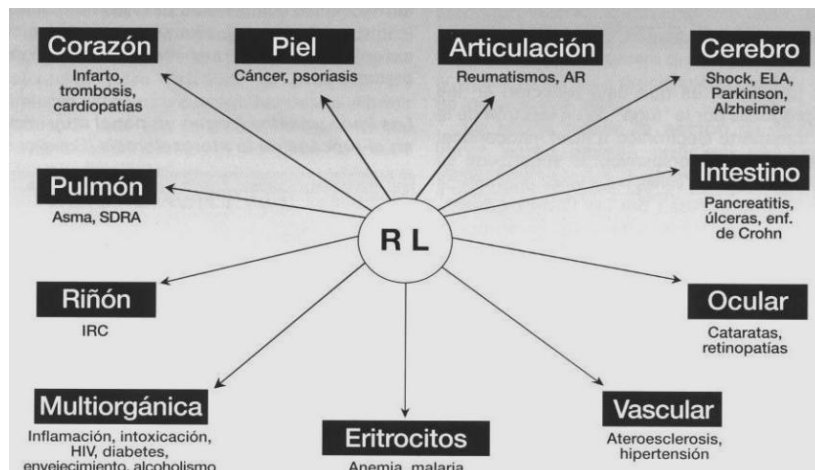
Se definen como *antioxidantes* a aquellas sustancias naturales o sintéticas capaces de inhibir o prevenir la oxidación causada por los radicales libres (Shahidi, 2004), unos actúan a nivel intracelular y otros en la membrana de las células siendo eficaces contra el estrés oxidativo.

Debido a la acción oxidante sobre los lípidos de membrana, las proteínas celulares y los ácidos nucleicos (ADN, ARN), las especies reactivas han sido asociadas con numerosas enfermedades crónicas y con el proceso de envejecimiento, entre las que se encuentran dos de las mayores causas de mortalidad en las sociedades occidentales; el cáncer y las enfermedades cardiovasculares (Lee, 2004). La oxidación de los lípidos de membrana, a través de las reacciones en cadena de peroxidación lipídica, da lugar a la pérdida de fluidez de la membrana, alterándose sus propiedades y su funcionalidad, e incluso liberándose proteínas ligadas a la membrana celular (Beckman y Ames, 1998) (Figura 3), y por tanto, no podrá cumplir sus funciones como el intercambio de nutrientes y la limpieza de materiales de desecho, haciendo imposible el proceso de regeneración y reproducción celular.



**Figura 3.** Daños causados por los radicales libres a diferentes estructuras de la membrana plasmática.

Existen muchas patologías asociadas con el estrés oxidativo (figura 4), entre ellas la aterosclerosis, provocada por la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Abuja y Albertini, 2001). El daño oxidativo a proteínas, produce lesiones importantes porque introducen modificaciones que pueden afectar a la función de receptores, enzimas, proteínas transportadoras, e incluso generar nuevos antígenos capaces de desencadenar la respuesta inmune. Los ácidos nucleicos son susceptibles al daño oxidativo, inactivándose las enzimas reparadoras de ADN o alterándose el funcionamiento de las ADN polimerasas durante la replicación del ADN (Halliwell y Whiteman, 2004), contribuyendo al crecimiento anormal de las células, perdiendo éstas la capacidad de reconocer las células vecinas, proliferando sin control y dando lugar a modificaciones que conducen a la mutagénesis y carcinogénesis (Lee, 2004).



**Figura 4.** Patologías asociadas a los radicales libres.

Por todo ello, muchas enfermedades crónicas se han ligado directamente con los radicales libres, como la enfermedad cardiovascular, Alzheimer, accidente vascular cerebral, hepatitis, hipertensión, artritis reumatoide, lupus, diabetes mellitus, enfermedad periodontal, colitis ulcerativa, aterosclerosis, fallo renal crónico y muchas otras.

Esta situación hace a los individuos más vulnerables frente a condiciones patológicas asociadas al estrés oxidativo, haciendo necesario un aporte adecuado de sustancias antioxidantes para hacer frente a la agresión de los radicales libres (Mediyani, 2000).

### **Compuestos fenólicos o polifenoles.**

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios sintetizados por los vegetales tanto en su desarrollo normal como en respuesta a condiciones de estrés (polución, radiaciones UV, temperaturas extremas, parásitos).

Comúnmente se encuentran en verduras, frutas y otras fuentes de alimentos que forman una parte importante de nuestra dieta. Además, se encuentran entre las sustancias bioactivas más potentes y útiles terapéuticamente (Balasundram, 2006).

La cantidad de polifenoles presentes en una planta depende de factores como la especie a cultivar, técnica y condiciones de cultivo, estado de maduración, así como de las condiciones de procesado (pelado, troceado, fritura) y almacenamiento, entre otras. Por otro lado, su distribución en los tejidos de las plantas, a nivel celular y subcelular, no es uniforme. Por un lado, las capas externas de las plantas contienen mayores cantidades de polifenoles que las internas, y por otro lado, en el interior de la célula, los compuestos fenólicos insolubles se encuentran en las paredes celulares, enlazados a diversos compuestos celulares (contribuyen dándole resistencia mecánica), mientras que los solubles se encuentran en las vacuolas (Naczki y Shahidi, 2006; Middleton, 2000).

El interés creciente que despiertan los polifenoles se debe a diversos factores, entre ellos, a su actividad antioxidante y antimicrobiana (Barrajón, 2010) y también a su importante papel en el crecimiento y metabolismo de la planta, desempeñando importantes funciones fisiológicas y morfológicas. Actúan en el crecimiento (en general, actúan como inhibidores, aunque se han encontrado compuestos que de forma específica lo activan) y reproducción (las semillas acumulan importantes cantidades de fenoles en sus cubiertas que actúan como un filtro para que el oxígeno no llegue al embrión, inhibiendo su germinación). Además, como los fenoles suelen acumularse en

las capas más superficiales de los vegetales, captan las radiaciones UV, impidiendo sus efectos nocivos en los tejidos internos.

Una de las funciones más características de los polifenoles es establecer relaciones químicas de las plantas con su entorno. Son componentes de esencias y pigmentos de las flores y frutos, confiriéndoles aromas y coloraciones atrayentes para insectos y animales herbívoros, respectivamente, favoreciendo la polinización y la dispersión de semillas. Aunque también pueden generar sabores (principalmente amargos) o texturas desagradables para que dichos animales se nutran de otras plantas.

Por otro lado, las plantas se defienden del ataque de patógenos sintetizando fitoalexinas, que son tóxicas para los microorganismos y su presencia previene las infecciones.

Los polifenoles tienen un fuerte impacto en las cualidades organolépticas y nutricionales de las frutas y vegetales, están íntimamente relacionados con sus cualidades sensoriales y nutricionales (Puupponen-Pimiä, 2001; Cheynier, 2005) de forma que contribuyen en su color (incluyen pigmentos amarillos, naranjas, rojos y azules), sabor (sobre todo en el amargor y astringencia, que es el resultado de la interacción entre los taninos y las proteínas de la saliva), olor y estabilidad oxidativa.

En el hombre, los beneficios en la salud derivados de la ingesta de frutas y verduras se han asociado con los polifenoles, sobre todo por sus propiedades antioxidantes (Obrenovich, 2010; Balasundram y cols., 2006) exhibiendo un rango muy amplio de propiedades fisiológicas: anti-alérgicos, anti-inflamatorios (Kris-Etherton, 2002), anti-microbianos (Iswaldi, 2012), cardio-protectores, vasodilatadores (Fernández-Panchon, 2008), anti-cancerígenos (Menéndez, 2008; García, 2010; Lozano, 2010; Hua Yao, 2011), anti-trómbicos, antihiperlipémicas (Fernández-Arroyo, 2011) entre otras. Para evaluar los efectos biológicos de estos compuestos, así como de cualquier fármaco o componente alimenticio, uno de los aspectos más importantes a tener en cuenta es su biodisponibilidad, en la que influyen factores tales como estructura química, absorción, distribución, metabolismo y eliminación (Bravo, L., 1998)

#### **Técnicas de determinación de la actividad antioxidante.**

La determinación de la actividad antioxidante de los alimentos es importante para predecir el potencial antioxidante *in vitro* de los mismos antes de ser ingeridos; así mismo, nos permite determinar la protección frente a la oxidación y el deterioro del alimento que disminuye su calidad y valor nutricional.



Los métodos de determinación de la actividad antioxidante se basan en distintos sistemas generadores de radicales libres. Dichos radicales reaccionarían con la muestra y en virtud de la capacidad antioxidante de esta se inhibiría la generación de los primeros. Lo ideal sería medir la actividad antioxidante de cada componente de la muestra por separado, sin embargo, y sobre todo en el caso de muestras naturales, es muy difícil determinar el número y concentración de los compuestos antioxidantes presentes en la muestra.

En la actualidad, debido a la complejidad de los procesos de oxidación, no existe un método que refleje de forma completa el perfil antioxidante de una muestra, por tanto, es bueno trabajar con varios métodos para facilitar la comparación e interpretación de los resultados. Las características “ideales” que, según Prior (Prior, 2003), debe reunir un método de determinación de capacidad antioxidante son: sencillez, mecanismo químico definido y punto final fijo, instrumentación accesible, reproducibilidad, adaptabilidad a sustancias antioxidantes hidrofílicas y lipofílicas con diferentes fuentes generadoras de radicales libres y elevado rendimiento de análisis (Sánchez-Moreno, 2002).

Las medidas de la actividad antirradicalaria se pueden realizar mediante dos estrategias distintas, en función de la información que se desea obtener (Huang, 2002):

- Determinación directa: El radical se emplea como un factor de cuantificación (produce una señal analítica). La adición del antioxidante, antes o después de la generación del radical, provoca una disminución de la señal. En el ensayo de post-adición se forma el radical en ausencia de la muestra y así, cuando se añade la sustancia antioxidante se produce un descenso en la señal debido a la disminución de la concentración del radical. En ensayos de inhibición, la muestra se añade a los sustratos de oxidación antes que sea generado radical, la reacción comienza con la adición del oxidante (métodos: ABTS<sup>•+</sup>, DPPH, etc) (Sánchez-Moreno, 2002).

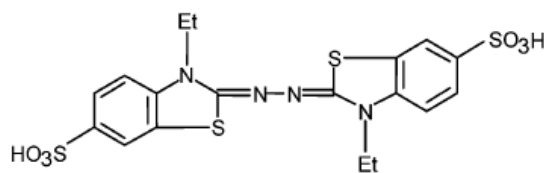
- Determinación indirecta: La presencia de radicales libres produce la pérdida o aparición de un reactivo, y por tanto, en presencia de un antioxidante se provoca el aumento o disminución de la señal (métodos: ORAC, FRAP, etc).

**TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity). Método del ABTS<sup>•+</sup> (Ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico).**

Se aplica el método desarrollado por Miller et al 1993 y modificado por Re et al 1999. (Re y cols, 1999) Se mide la actividad antioxidante del extracto hidrofílico de la muestra basándose en la capacidad de ésta, para capturar los radicales libres presentes en el medio. El método consiste en la inhibición, por el antioxidante, de la absorbancia del radical  $ABTS^{\bullet+}$ , compuesto cromóforo muy estable, soluble en agua y con un máximo de absorción a 340 nm.

La determinación de la actividad antioxidante se realiza mediante una curva de calibrado que relaciona la pérdida de absorbancia con la concentración de antioxidante presente en la muestra.

Se trata de un método de transferencia de electrones (SET, Sigle Electron Transfer), el radical  $ABTS^{\bullet+}$  se genera a partir de su precursor el Ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS) (ver figura 5) (Miller y cols., 1993; Prior, 2005; Prior, 2003; Ou, 2001). El radical catiónico obtenido es un compuesto de color verde-azulado, estable y con un espectro de absorción en el UV-visible.



**Figura 5.** Estructura del Ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS)

Es un radical artificial que no mimetiza bien la situación in vivo, termodinámicamente puede ser reducido por compuestos que tengan un potencial redox menor que el del ABTS (0.68V), pudiendo reaccionar con el radical muchos compuestos fenólicos con un potencial más bajo. El punto final de la reacción lo marca la sustancia antioxidante empleada, fijando tiempos cortos o muy elevados que pueden interferir en los resultados finales, lo cual, es un inconveniente.

La ventaja de este ensayo es que puede realizarse tanto en muestras hidrosolubles como liposolubles, eligiendo el disolvente apropiado en cada caso.

Existen varios métodos de generación del radical  $ABTS^{\bullet+}$ :

- Enzimáticamente (mioglobina, peroxidasa de rábano).
- Químicamente (Dióxido de manganeso, persulfato potásico, radicales peroxilo).
- Electroquímicamente.

La forma más usual de generar el radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  es químicamente, utilizando para ello persulfato potásico. La oxidación con persulfato potásico se lleva a cabo a temperatura ambiente, en ausencia de luz, en un tiempo de 12 a 16 h. El persulfato potásico y el ABTS reaccionan estequiométricamente (1:0.5). Una vez generado el radical la medida se realiza mediante un ensayo de post-adición. Este método se aplica en la determinación de la actividad antioxidante de frutas, verduras, bebidas estimulantes, etc (Leong y Shui, 2002).

### Método FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Power).

En este método se determina la capacidad antioxidante de forma indirecta. Este método de transferencia de electrones (SET, Single Electron Transfer) se basa en el poder que tiene una sustancia antioxidante para reducir el  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$  que es menos antioxidante. El complejo férrico-2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) incoloro es reducido al complejo ferroso coloreado (figura 6) (Miller y cols., 1993; Pulido y cols., 2000)

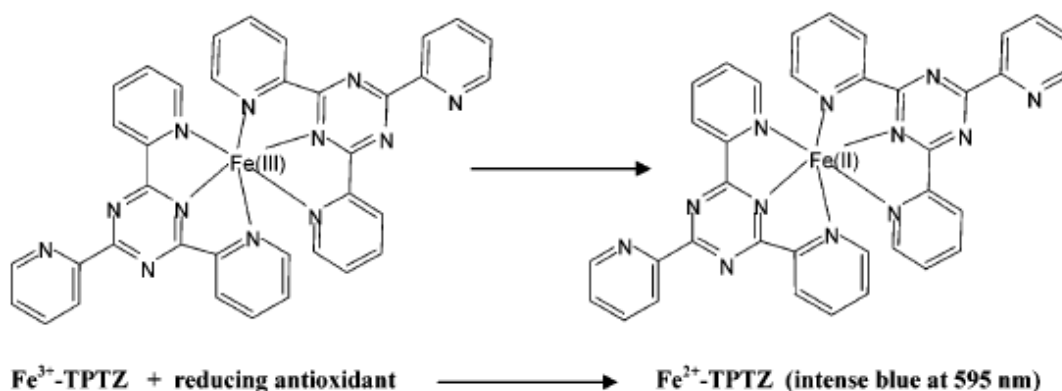


Figura 6. Reacción producida en el método FRAP

Se trata de un método espectrofotométrico ya que se mide la absorbancia del  $\text{Fe}^{2+}$ . Así, cuanto más antioxidante es la sustancia objeto de estudio, mayor es la reducción y mayor la concentración de  $\text{Fe}^{2+}$  y más alta la señal de absorbancia. El complejo va a poder ser reducido por productos con potenciales redox menores a 0,7 V (potencial redox del  $\text{Fe}^{3+}\text{-TPTZ}$ ).

Debido a que el potencial redox del  $\text{Fe}^{3+}\text{-TPTZ}$  es comparable con el del ABTS se pueden analizar compuestos similares con ambos métodos aunque las condiciones de la reacción sean distintas. El mecanismo del FRAP es de transferencia de electrones, a diferencia de otros métodos donde se produce captura de radicales libres, según esto, el

FRAP puede ser útil, en combinación con otros métodos, en la determinación de la capacidad antioxidante de productos que contengan distintos tipos de antioxidantes.



## **5. FORMAS SÓLIDAS ORALES**

La vía oral es, sin duda, la más utilizada para la administración de medicamentos, no solamente porque se trate de la vía más fisiológica, sino porque presenta indudables ventajas debido a su sencillez, seguridad y comodidad. Las formulaciones sólidas para administración oral más habituales son los comprimidos y las cápsulas. Entre las ventajas que presentan estas formas farmacéuticas pueden destacarse su gran estabilidad física, química y biológica, la exactitud en la dosificación, un sencillo y práctico modo de aplicación, las buenas posibilidades de controlar la liberación del fármaco y el bajo coste. Además, la gran versatilidad en la formulación de las formas sólidas permite formular de un modo óptimo prácticamente cualquier principio activo. (Vila Jato JL, 1997).

### **POLVOS**

#### **Definición:**

Son preparaciones constituidas por partículas sólidas, libres, secas y más o menos finas, que contienen uno o más principios activos, con o sin excipientes y, si es necesario, colorantes y aromatizantes. Se administran generalmente en o con agua u otros líquidos apropiados, solamente en algunos casos, pueden también ingerirse directamente. Presentados tanto en forma de preparaciones unidosis como multidosis.

Los polvos para uso oral multidosis requieren el uso de un dispositivo de medida que permita dosificar la cantidad prescrita. Cada dosis de polvo unidosis se presenta en un envase individual, por ejemplo, un sobre, o un vial (Dal-Re y Vardulaki, 2005).

Hoy día desempeñan un gran papel como sustancias a granel o de relleno en la manipulación de medicamentos y como materia prima galénica para la preparación de numerosas formas medicamentosas como, por ejemplo, gránulos, tabletas, grageas, suspensiones y otros preparados (ungüentos, supositorios).

Las partículas de los polvos difieren en forma, tamaño y peso y contactan mutuamente entre sí. Su forma depende del procedimiento utilizado para su preparación o pulverización. La partícula de polvo cuyo tamaño máximo, arbitrariamente fijado, no debe sobrepasar de 1 mm, es la unidad espacial de estado de agregación sólido. Sus elementos constitutivos (moléculas, células, material disperso de diversa constitución química) se mantienen reunidos por cohesión. Puede tratarse de cristales individuales,

sustancia amorfa o un agregado de partículas que no son separables por los procedimientos de mezcla (Voigt, 1982).

**Producción:**

Durante la fabricación de polvos para uso oral se deben tomar medidas para garantizar un tamaño de las partículas adecuado para el uso pretendido. Asimismo, durante la fabricación, envasado, conservación y distribución de los polvos para uso oral se toman las medidas necesarias para asegurar su calidad microbiológica (Dal-Re y Vardulaki, 2005).

**Conservación:**

En envase hermético, si la preparación contiene ingredientes volátiles o si el contenido del envase ha de ser protegido (Dal-Re y Vardulaki, 2005).

**Preparación de sólidos pulverulentos:**

Los sólidos pulverulentos poseen, en Tecnología Farmacéutica, gran importancia ya que constituyen las materias primas para la elaboración de numerosas formas farmacéuticas.

En la mayoría de los casos, la preparación de polvos se efectúa por pulverización con ayuda de dispositivos mecánicos. El material, previamente molido groseramente, se somete a molienda fina o finísima, utilizando máquinas de diverso tipo, adecuadas a la tecnología farmacéutica. De acuerdo con la cantidad, las propiedades y el grado de finura deseado de la sustancia, se utilizan sobre todo, los molinos de bolas, de percusión, de pistilo, etc. Para la preparación de *micropolvos*, constituidos por polvos micronizados con un tamaño de partícula inferior a 10  $\mu\text{m}$  (casi siempre 1-5  $\mu\text{m}$ ), se utilizan los molinos de chorro de aire, también llamados micronizadores. La pulverización de las partículas conduce a un gran aumento de la superficie.

El calor desarrollado durante el proceso de pulverización debe mantenerse lo más bajo posible. Ha de vigilarse que el aparato utilizado no desprenda residuos metálicos que puedan incorporarse al polvo. Existe una molienda en húmedo que tiene un papel secundario en tecnología farmacéutica, son procedimientos con los que pueden obtenerse medicamentos pulveriformes utilizando sistemas combinados de nebulización y desecación. Puede influirse técnicamente, de muchas maneras, sobre el tamaño y forma de las partículas. También se obtienen polvos finamente dispersados mediante

liofilización. Este procedimiento tiene aplicación especialmente cuando se trata de sustancias termolábiles.

Los polvos simples constan de una sustancia solamente. Muestran el adecuado grado de finura (pulverizados hasta grado semigroso, por lo menos). Los polvos compuestos, como su nombre indica, están formados por varias sustancias. Para su mezcla se utilizan dispositivos como Mezclador de costilla o de manubrio, Mezclador de cubilete, Mezclador de doble cono y Mezclador en forma de V. En el caso de hacerlo magistralmente, si se trata solamente de pequeñas cantidades, también son adecuados el clásico mortero con pistilo. Hay que asegurarse de que, por el procedimiento de mezcla elegido, todos los componentes queden distribuidos por igual en la mezcla. El grado de mezcla alcanzado es función del tiempo depende de los componentes que se han de mezclar, del procedimiento y de la capacidad de rendimiento del sistema mezclador.

Extendiendo una muestra sobre una superficie lisa, no deben ser visibles a simple vista aglomeraciones u otras diferencias. Si los componentes del polvo tienen distinto grosor, o hay entre ellos diferencias acusadas de densidad, la anterior exigencia no siempre es fácil de cumplir. Otras dificultades que se presentan en el proceso de mezcla cuando los componentes del polvo adsorben vapor de agua, es la tendencia a la aglomeración. Los extractos secos tienen, asimismo, poca humedad y tienden también a “apelmazarse”. Para evitarlo, se recomienda la trituración intensiva con lactosa o con dióxido de silicio de elevada dispersión. También pueden emplearse aceites etéreos con este fin. En principio, las mezclas de polvo pueden elaborarse solamente con sustancias bien desecadas. Para evitar la humidificación de las mezclas de polvo que contengan sales inorgánicas, deberán emplearse dichas sales en forma anhidra. Las sustancias higroscópicas, las muy olorosas y las volátiles deberán envasarse en cápsulas ceras o en papel parafinado o en otros materiales impermeables de envasado.

Para garantizar una buena exactitud de dosificación, la cantidad de polvo a pesar no deberá ser demasiado pequeña. Las “cucharillas” o “medidas” para la distribución de polvos sólo podrán utilizarse en el caso de medicamentos en cuya dosificación sea admisible un amplio margen de error. Dado que en estos casos la dosificación depende del volumen, y no del peso, las variaciones del peso dependen de las propiedades del polvo (su fluidez, densidad, etc); estas desviaciones del peso, inadmisibles, son inevitables a menos que se practique ulteriormente un control de peso. Lo mismo puede aplicarse a los aparatos dispensadores de polvo. Las máquinas envasadoras de polvo



también dosifican según volumen. La buena exactitud de las dosis se consigue en estos casos normalizando las propiedades del polvo, por adición de fluentes o mediante granulación (Voigt, 1982).

### **Propiedades de los sólidos pulverulentos:**

Los polvos se caracterizan por sus propiedades específicas, que derivan de la dimensión, superficie, características reológicas y técnico-farmacéuticas.

#### 1. Cualidades dimensionales

Dado que las partículas no presentan forma regular (por ejemplo, esferiforme o cúbica), sino que tienen distinto diámetro en las diversas direcciones en que se haga la medida, no es posible una determinación absoluta de su tamaño o de su volumen. Pueden realizarse evaluaciones microscópicas o bien mediante tamizado.

#### 2. Cualidades superficiales

Gracias a su campo de fuerzas, la superficie de las partículas sólidas puede absorber moléculas de gases y vapores. Esta fijación puede realizarse por vía física (adsorción de Van der Waals) o química (quemosorción). La magnitud de la porción depende de la calidad de la superficie y del tamaño y forma de las partículas. Si las partículas son porosas, es decir, si existen poros, grietas o canales, la superficie adsorbente estará aumentada y, por tanto, también la capacidad de adsorción. Las isothermas de adsorción reproducen las relaciones existentes entre las cantidades de gas adsorbidas físicamente y la presión de equilibrio, a temperatura constante.

Por adsorción de vapor de agua en el polvo, se forman capas intermedias acuosas en muchos medicamentos sólidos, que pueden influir intensamente en su estabilidad (hidrólisis), su reacción y su solubilidad.

#### 3. Propiedades reológicas

El comportamiento de “flujo” de los polvos, que es comparable con el de los líquidos no newtonianos, es influido por la forma y tamaño de las partículas, por las fuerzas de cohesión entre las partículas y por la formación de películas superficiales (por ejemplo, agua) y otros factores. La capacidad de retención de los polvos radica en las fuerzas de Van der Waals entre las superficies sólidas, y en las relaciones de carga electrostáticas o fuerzas desarrolladas entre los estratos adsorbentes. Las cualidades de flujo de polvos

para uso externo y de granulados pueden mejorarse por adición de fluentes, que disminuyen el rozamiento entre partículas.

#### 4. Propiedades tecnológicas-farmacéuticas

Se deben tener en cuenta la solubilidad y la relación entre tamaño de las partículas y actividad clínica, así como también otras características tales como las que se presentan en la preparación tecnológica del medicamento, por ejemplo, el aumento de energía superficial o de la fuerza de adsorción, o el incremento de la formación de aglomerados y de sobrecarga eléctrica durante la pulverización. (Voigt, 1982)

### GRANULADOS

Entendemos por granulación a la transformación de las partículas de polvo cristalizado o amorfo en agregados sólidos más o menos resistentes y porosos denominados gránulos, consiguiendo así un tamaño de partícula adecuado, conservando la capacidad de cohesión del polvo y mejorando, además, su fluidez. Gracias a esta fluidez se facilitan otras operaciones posteriores tales como, el llenado continuo y uniforme de las matrices de la máquina de comprimir o su distribución unidosis.

Munzel y Akay definieron el granulado como un agregado asimétrico “conglomerado” de partículas de polvo (cristales completos, fragmentos cristalinos, partículas de drogas). No presentan forma geométrica armónica, la denominación que se les agencia de forma esférica, bastoniforme, cilíndrica, etc., es solamente indicativa. La superficie de estos granulados, por regla general, es desigual, con crestas y fisuras y, con frecuencia, es más o menos poroso.

Las partículas del granulado se unen mediante enlaces interatómicos e intermoleculares de diferente naturaleza: fuerzas de Van der Waals, enlaces por puentes de hidrógeno, puentes sólidos de sustancias cristalinas, etc (Lachman y cols., 1986).

Existen una serie de requisitos que el granulado debe de cumplir y estos se resumen en que el granulado debe:

- Ser lo más regular posible en forma y color
- Presentar un grado de dispersión de tamaño de grano lo más estrecho posible y no contener más del 10 % de polvo libre
- Poseer buena fluidez

- Presentar suficiente resistencia mecánica
- No estar demasiado seco (3-5 % de humedad residual)
- Desleirse bien en agua

Los granulados además de constituir por si mismos formas medicamentosas independientes, son considerados productos intermedios en la fabricación de comprimidos, cápsulas rígidas y sobres. Actualmente se tiende, cada vez más, a convertir las mezclas de polvos en granulados, para mejorar su ingestión y conseguir dosificaciones más exactas. Esta aplicación se facilita aún más mediante la adición de correctores de sabor o por grajeado. Los granulados como formas medicamentosas independientes presentan por lo general un tamaño de grano algo mayor que el que se utiliza para la compresión. Mecánicamente son más resistentes y se obtienen por humectación adecuada y aglutinación del polvo.

Para la elaboración del granulado, según se emplee o no la adición de un disolvente, se recurre a la granulación por vía seca o vía húmeda. Existe un caso particular de la vía húmeda y es la denominada pelletización, donde se originan los Pellets, que son conglomerados de partículas de forma más o menos esféricas y más densos que los originados en la granulación convencional.

### **Granulación por vía húmeda**

Inicialmente se llevan a cabo los procesos de pulverización y posterior mezclado con algunos excipientes, tales como, diluyentes, disgregantes, aglutinantes y correctores, hasta obtener una dispersión homogénea entre ellos.

La obtención del granulado implica en primer lugar la *humectación* de la mezcla de polvo. Esta etapa confiere a las partículas, mediante la adición de un disolvente, unas características de adhesividad que dan lugar a una masa adecuada para la granulación. Es importante tener en cuenta que la cantidad de disolvente que se añade es un factor decisivo para esta etapa. Un exceso de humedad hace que la masa humidifique mucho y se adhiera a la malla que usamos para la elaboración del granulado, prolongándose así el tiempo de desecación. Por el contrario, una humedad insuficiente provoca la ruptura del granulado, dando lugar a una elevada proporción de polvo entre el granulado.

Posteriormente a ésta etapa, se procede a la *granulación* propiamente dicha, que consiste en someter la masa humectada a una presión mecánica que fuerza su paso a

través de una superficie perforada o tamiz de una determinada abertura de malla y así obtener pequeños cilindros que constituyen el granulado. Para esta operación se utilizan distintos tipos de granuladores, existen los de tipo oscilante que obligan a que la masa humectada pase a través de un tamiz semicilíndrico mediante unas barras metálicas que ejercen un movimiento de vaivén, dando lugar a gránulos duros de pequeño tamaño, porosos y de superficie relativamente lisa. Otro tipo son los rotatorios, en los que la masa humectada pasa a través de un tamiz ejerciéndose presión mediante un rotor de paletas, generando gránulos más compactos y de mayor tamaño.

El grado de humedad considerado óptimo para un granulado dependerá de las características particulares de cada componente empleado en la fórmula, aunque suele estar entre el 2-3%. Para eliminar el exceso de humedad existente se procede a la *dsecación*. Generalmente se recomienda que la desecación se realice de manera lenta y gradualmente, evitando de esta manera problemas de inestabilidad térmica y la formación de una costra exterior que impida la salida del disolvente que queda en el interior del granulado. Se evitarán también problemas de caramelización y moteado en aquellos granulados que contengan azúcares y colorantes respectivamente.

Los métodos más usados para la desecación del granulado son la desecación en estufa o armario de desecación y el lecho fluido, y, en menor medida, las radiaciones, la radiofrecuencia, el vacío y las microondas. El problema de las estufas es que es un proceso de larga duración, favorece que se adhieran unos gránulos a otros debido a la formación de puentes entre sus puntos de contacto y se produce migración del soluto hacia la parte más superficial del granulado debido a que solo se evapora el disolvente que se encuentra en la superficie de la partícula. Por el contrario, el lecho fluido es un método mucho más rápido y consigue mantener separadas las partículas del granulado, reduciéndose el problema de agregación y evitando la migración del soluto.

Finalmente el granulado se somete a una *doble tamización*, esta operación se realiza mediante tamices de abertura de malla igual o, más frecuentemente, menor al empleado para la granulación y así obtener la fracción granulométrica más adecuada.

Otros métodos alternativos de granulación son:

1. Granulación por atomización

Este método se realiza en una cámara donde se introducen los sólidos a granular. Éstos se mantienen en constante agitación para que la suspensión formada por diluyentes, disgregantes, aglutinantes, etc., bombeada por un sistema de atomización, asegure una distribución homogénea. Una corriente de aire caliente es la que va a secar el disolvente y los sólidos caen al fondo de la cámara en forma de granulado seco y esférico, cuyo diámetro dependerá del flujo y de la velocidad de atomización.

## 2. Granulación por lecho fluido

Todos los componentes de la fórmula se suspenden en una corriente de aire dentro de un cilindro o columna cónica, produciéndose el mezclado. A continuación, se atomiza una solución adhesiva en la misma corriente de aire, de forma que el aglutinante agrega las partículas mientras se evapora el solvente.

La calidad del granulado se ve afectada por diversos parámetros, tales como, la concentración y tipo de aglutinante utilizado, el líquido de granulación, la velocidad y temperatura del aire que fluidifica el lecho de partículas y la presión utilizada para atomizar el líquido de granulación.

Este método a pesar de tener muchísimas ventajas, presenta algunos inconvenientes derivados del efecto abrasivo que se produce debido al constante roce entre las partículas, a la aparición de cargas electrostáticas y al continuo contacto de las partículas con el aire, lo que puede afectar a la estabilidad del producto.

## **Granulación por vía seca**

Este método, también conocido como “granulación por doble compresión”, no es muy utilizado y comprende dos etapas: la compresión y el triturado-tamizado. Se recurre a ésta vía cuando los componentes del granulado son sensibles a la humedad, no soportan temperaturas altas en el secado, son excesivamente solubles en los líquidos de humectación, y si, además, poseen elevadas propiedades cohesivas.

En esta técnica se comprime directamente el polvo, constituido por la mezcla del componente activo, el diluyente y el lubricante, de los cuales alguno de ellos debe tener propiedades cohesivas, o bien adicionar algún aglutinante en seco. Las dos técnicas más empleadas para esta compresión son el briqueteado o slugging y la compactación por rodillos. Posteriormente las briquetas son fracturadas en un molino de pulverización para obtener el granulado, el cual debe someterse a una doble tamización para conseguir

una uniformidad en el tamaño. El rendimiento de esta operación se incrementa usando la compactación por rodillos ya que se promueve la compactación y se facilita la eliminación del aire interpuesto, obteniéndose una placa comprimida de gran dureza.

El inconveniente de esta vía seca es que se genera gran cantidad de polvo y partículas finas que deben ser reciclados.

## **PASTILLAS**

Tradicionalmente, las pastillas o lozenges fueron muy utilizadas, administradas para aliviar síntomas menores como irritaciones de garganta, úlceras bucales, para administración tópica de anestésicos y antibióticos, etc. Actualmente, están alcanzando de nuevo una gran popularidad como medio de liberación de diferentes tipos de principios activos.

Son formas farmacéuticas sólidas destinadas a disolverse lentamente en la cavidad bucal o ser masticadas, con objeto de obtener un efecto local o sistémico. Constituidas por una elevada proporción de azúcar o una combinación de gelatina y azúcar, sobre la que se incorpora el principio activo y otras sustancias, como colorantes y aromatizantes (Lloyd, 1999). Son de textura suave y presentan forma y tamaño variable y habitualmente se clasifican en:

### **5.7.1. Pastillas duras**

Son mezclas de azúcar y otros carbohidratos en estado amorfo o cristalino, por lo que podrían clasificarse como jarabes sólidos. Deben presentar una textura superficial suave, un gusto agradable capaz de enmascarar el sabor del fármaco y disolverse o erosionarse en la boca lenta y uniformemente en aproximadamente 5- 10 minutos. Para su preparación requieren elevada temperatura, por lo que no pueden utilizarse para la formulación de fármacos termolábiles.

### **5.7.2. Pastillas blandas**

Constituidas por una mezcla de varios polietilenglicoles, goma acacia o materiales similares. Algunas de estas pastillas están formadas por una base de gelatina, glicerogelatina o goma arábiga. Presentan apariencia transparente, y generalmente van adicionadas de colorantes y saborizantes. Dependiendo de su finalidad pueden ser de disolución en la boca, masticadas o tragadas.

### 5.7.3. Pastillas masticables

Existen muchas publicaciones donde no se establecen diferencias entre caramelos y pastillas (Rudnic y Schwartz, 1995). Sin embargo, la USP (United States Pharmacopeia) denomina pastilla a una subclase de caramelos moldeados (USP, 2001). Existen diferencias entre ambos términos al describir a las pastillas como caramelos que son más blandos y contienen una concentración alta de azúcar o de azúcar y gelatina (Allen, 1997)

Introducidos en el mercado hace décadas, esta base de caramelos masticables es semejante a la antigua gelatina glicerinada, utilizada durante mucho tiempo como base para supositorios vaginales, más tarde su uso comenzó como base para preparaciones orales masticables (Allen, 1997).

Las pastillas masticables deben ser fácilmente fragmentadas con los dientes y tragadas posteriormente. Poseen un alto contenido en agentes saborizantes, confiriendo un sabor aromático agradable, no contienen disgregantes y constituyen una forma adecuada de administración, son preferidas por aquellos pacientes que tienen dificultades para deglutir y también por los niños que, con frecuencia oponen resistencia a la ingestión de comprimidos. Puesto que el agua no resulta necesaria para su deglución ni para el enjuagado posterior, su empleo es ventajoso también para ciertos profesionales, turistas, etc.

Por tradición, las pastillas y caramelos se han utilizado para producir efectos locales, para aliviar problemas de garganta producidos por la tos, úlceras, inflamación, etc. Más recientemente, los caramelos se han utilizado para administrar principios activos de manera sistémica. A medida que el caramelo o pastilla masticable se disgrega y disuelve lentamente en la boca, el principio activo se libera para su absorción bucal o sublingual, y la porción que se deglute es absorbida en el tubo digestivo.

# **OBJETIVOS**





### **OBJETO Y PLAN DE TRABAJO**

La dieta en la infancia determina la salud inmediata de los niños además de tener un importante efecto sobre la salud del adulto. Debe ser adecuada para el normal crecimiento y desarrollo, y al mismo tiempo aspirar a reducir el riesgo de las enfermedades crónicas del adulto relacionadas con la dieta. La infancia constituye, probablemente, el periodo de vida con una mayor demanda nutricional. Por ello, los niños, desde un punto de vista dietético, constituyen uno de los segmentos más vulnerables de nuestra sociedad.

Pese a que una educación alimentaria nutricional y una dieta diversificada son las primeras y más razonables estrategias a seguir en la alimentación saludable, existen situaciones en las que se produce algún grado de desnutrición, siendo necesario agregar más nutrientes y/o calorías en poco volumen de alimento, o que oportunamente, en países subdesarrollados, resulte más adecuado el uso de alimentos funcionales, según la región, época o situación económica.

Así pues, para conseguir una nutrición óptima en la edad infantil, la investigación debe orientarse hacia una mejora de la salud y la calidad de vida de los niños.

En este contexto, los alimentos deshidratados constituyen una alternativa como complementos a dietas deficitarias condiciones de malnutrición. De entre todos los alimentos, la deficiencia en vitaminas y minerales es particularmente importante debido a las graves consecuencias que esta provoca en el desarrollo físico e intelectual del niño, de ahí la especial relevancia que han tenido los deshidratados vegetales en los últimos años.

Por otro lado numerosos estudios clínicos han proporcionado evidencia consistente de las propiedades antioxidantes de los vegetales frescos así como de numerosos vegetales deshidratados como tomate, ajo, cebolla, zanahoria o brócoli.

Sin embargo, hasta donde sabemos, no existen estudios suficientes sobre mezclas de vegetales deshidratados, que pudieran ser usados como complemento a la dieta infantil.

Los antioxidantes dietéticos son capaces de neutralizar el oxígeno de los radicales libres, inhibir la oxidación de la LDL o proteger contra la enfermedad de las arterias coronarias, el cáncer y las enfermedades neurodegenerativas. La abundancia de

alimentos de origen vegetal ofrece una gran variedad de antioxidantes en la dieta, tales como las vitaminas C y E, carotenoides, flavonoides y otros compuestos fenólicos.

No obstante, son muchos los factores a tener en cuenta a la hora de desarrollar una nueva forma de dosificación para un determinado producto, cuanto más, si este está destinado a la población infantil. Los niños son uno de los tipos de población, junto a la tercera edad, más problemáticos en el tratamiento de determinadas afecciones debido precisamente a su edad y sus características fisiológicas. Entre los factores a considerar destaca la importancia de una adecuada forma farmacéutica que garantice la correcta dosificación, administración y el correcto cumplimiento con el que el refuerzo en micronutrientes llegue al paciente. Aunque se es consciente de ello, la distribución de suplementos hasta grupos vulnerables (niños, ancianos) con suplementos vitamínicos y minerales se hace en forma de comprimidos, cápsulas y jarabes a pesar de las graves desventajas de estas formas farmacéuticas en cuanto a deglución o estabilidad, según el caso, se refiere.

Basándonos en estas premisas y dado el auge que ha tomado la producción y consumo de alimentos deshidratados, nuestro objetivo fue desarrollar un polvo como forma de dosificación de distintos vegetales deshidratados, que administrada junto a las comidas, complemente la dieta de aquellos niños que no ingieren las cantidades adecuadas de vegetales y hortalizas. Adicionalmente se estudia la posibilidad de incluir dicha mezcla de vegetales deshidratados en otras formas de dosificación más flexibles y de fácil administración como granulados y pastillas de goma; con las que además de conseguir un vehículo para la ingesta de vegetales y frutas se incremente el valor nutricional del mismo.

Los vegetales seleccionados han sido: Alcachofa, Borraja, Col-Brócoli, Espárrago, Judía, Pimiento, Tomate y Zanahoria. Como fruta el Limón.

Dicha elección se ha llevado a cabo en función de la importancia de los aspectos socio-económicos, nutricionales y actividad antioxidante que estos presentan en la mayoría de procesos degenerativos o patológicos.

Por tanto los objetivos del presente trabajo fueron:

1. Puesta a punto y normalización de la técnica para la obtención de deshidratados vegetales mediante condiciones controladas que garanticen la conservación de las características nutricionales y funcionales de los mismos.

2. Desarrollo de una forma de dosificación de la fórmula de deshidratados en cuestión, que satisfaga las características fisiológicas y exigencias del consumidor y/o manipulador.

2.1. Elaboración de polvos a partir de los deshidratados vegetales objeto de estudio aptos para su útil y fácil consumo.

2.2. Elaboración de nuevas formas farmacéuticas a partir de la mezcla de polvos, en concreto de un granulado efervescente, granulado sacaruro y pastillas masticables.

2.3. Estudio de todas y cada una de las operaciones tecnológicas llevadas a cabo hasta la obtención de los sólidos pulverulentos que van a constituir nuestras muestras iniciales objeto de trabajo. Estas operaciones fueron lavado, troceado, deshidratación, pulverización, tamización, mezcla y homogeneización.

2.4. Al igual que para la elaboración de los polvos, se llevo a cabo el estudio de todas y cada una de las operaciones tecnológicas para la obtención de las distintas formas de dosificación (granulado efervescente, granulado sacaruro y pastillas masticables). Estas operaciones fueron malaxado, granulación, tamización, desecación y moldeado.

2.5. Caracterización tecnológica de todas las formas de dosificación obtenidas a partir de los vegetales frescos (mezcla de polvos, granulado efervescente, granulado sacaruro y pastillas masticables). Se realiza el análisis granulométrico de todas ellas, obteniendo información sobre el tamaño de partícula y forma, asimismo se estudian las propiedades organolépticas, reológicas y posológicas, incluyendo también características físicas, como humedad residual, porosidad y medida de pH, y un estudio de los indicadores biofarmacéuticos, tales como la disgregación.

3. Todas las formulaciones obtenidas deberían ser capaces de presentar adecuadas propiedades antioxidantes y nutricionales. Por ello, con el fin de conocer la influencia del método de obtención de los deshidratados sobre estas propiedades y predecir su potencial antes de ser ingeridos se estudia la capacidad antioxidante por dos métodos como son el FRAP y el ABTS, la determinación de compuestos fenólicos en la mezcla de vegetales por el método de Folin-Ciocalteu y el valor nutricional de las formas farmacéuticas obtenidas a partir de los deshidratados vegetales. Del mismo modo se estudiarán ambas propiedades de los deshidratados antes y después de ser manipulados para la obtención de los granulados o pastillas de goma, ya que pueden estar

relacionadas con los cambios estructurales que puedan ocasionarse en el seno de las formulaciones como consecuencia de su elaboración.

4. Estudio microbiológico de las formulaciones finales tal y como define la Real Farmacopea Española para complementos dietéticos o suplementos nutricionales. Incluyendo parámetros tales como aerobios mesófilos, mohos y levaduras, coliformes totales, *escherichia coli*, *staphylococcus aureus* y salmonella.

Paralelamente a los ensayos microbiológicos, nutricionales y de efecto antioxidante, se realiza el estudio de estabilidad en función de la temperatura de conservación, siendo esta 4, 25 y 40 °C. El periodo de estudio ha sido de 3 meses tomando muestras periódicas para su evaluación a los 0, 15, 30, 60 y 90 días desde el momento de su preparación.

El número de determinaciones efectuadas por fórmula, tiempo y temperatura han sido 6. Se han calculado los valores medios y la desviación estándar para cada uno de los ensayos. Todos los resultados se han sometido a un tratamiento estadístico de Anova para un nivel de confianza del 95%, con objeto de comprobar si existen diferencias significativas entre las medias comparadas.

**PARTE  
EXPERIMENTAL**



**MATERIAL**





## MATERIAL Y MÉTODOS

### MATERIAL:

#### 1. ALCACHOFA



**Figura 7.** Alcachofa.

1.1. **Nombre vulgar:** Alcachofera

1.2. **Nombre científico:** *Cynara scolymus L.*

1.3. **Familia:** Compuestas

1.4. **Hábitat:** Planta cultivada en muchos lugares del mundo y muy abundante en el mediterráneo, pocas veces asilvestrada. La alcachofa se cultiva en países de clima cálido, sin presencia de heladas, en una tierra rica en nutrientes, bajo un buen grado de humedad y un drenaje conveniente que evita la aparición de hongos.

1.5. **Características:** Planta perenne de hasta 2 m de altura de familia de las compuestas. Hojas pinnado-lobuladas de más de 60 cm de longitud, con lóbulos sin espinas y envés tomentoso. Capítulos vistosos de hasta 15 cm, con las flores azuladas y las brácteas ovales. Receptáculo floral comestible.

Las alcachofas son los frutos de las alcachoferas (*Cynara scolymus*), pertenecen a la familia de las compuestas, a la que pertenecen otras plantas tan conocidas en jardinería como las margaritas (*Bellis perennis*) u otros alimentos muy apreciados como las endibias o la lechuga (*Lactuca sativa*). Las alcachofas son en realidad las yemas florales, es decir las flores a medio formar que se comen cuando están tiernas.

Dentro del genero cynara tenemos dos representantes que se utilizan en la alimentación: las alcachoferas y los cardos (*Cynara carduncellus*) cuyas hojas tiernas y tallos son los que se aprovechan para comer, aunque también poseen unos frutos semejantes a

pequeñas alcachofas situadas al final del vástago central que crece de su roseta de hojas verde grisáceas.

La actual alcachofera es una planta que procede de la alcachofera silvestre que es natural del este de África. Posteriormente se fue extendiendo su cultivo a lo largo de todos los países mediterráneos de occidente a medida que, por procedimiento de selección, se iban obteniendo cada vez ejemplares más productivos, con mejor sabor (la especie silvestre era muy amarga) y mejores propiedades alimentarias. Desde aquí se extendió al este del Mediterráneo y, posteriormente, a todos los lugares del mundo con el clima y el suelo adecuado.

Otras especies de alcachofa que crecen en el mediterráneo son *C. syriaca Boiss.*, *C. baetica (Spreng.) Pau*, *C. cornigera Lindley*, *C. cyrenaica Maire & Weiler*, *C. algarbiensis Cosson*, y *C. humilis L.* En todas ellas la relación y semejanza con el cardo silvestre parece no ser tan evidente.

El cultivo de la alcachofera es muy antiguo. Las primeras referencias hay que buscarlas en los dibujos grabados en las tumbas egipcias. Los griegos y los romanos la comieron en abundancia y siempre pensaron que era una planta que les aportaba grandes propiedades digestivas y afrodisíacas. En aquel tiempo de esta planta solamente se comían los tallos. La primera referencia en la que aparece la alcachofa como una hortaliza comestible es en el año 1400 en Italia.

#### 1.6. Componentes:

- Ácidos: cafeoilquínico y dicafeoilquínico, cafeico, linoleico, oleico, pantoténico... (Flor) ferúlico (planta.)
- Vitaminas: B (Niacina, Ribofamina, Thiamina, B6)
- Pigmentos: Flavonoide
- Mucílago
- Inulina
- Minerales: hierro, magnesio, fósforo, potasio

#### 1.7. Propiedades:

Protege al hígado y ayuda a su recuperación en caso de enfermedad hepática (cirrosis, hepatitis, insuficiencia hepática, intoxicación, etc). Favorece la función biliar. Los

ácidos cafeico, linoleico y oleico intervienen en su poder hepato-protector y el ácido cafeoilquinico es el que aporta un valor coleretico, es decir de estimulación de la bilis.

Su virtud principal radica en la capacidad que le proporcionan sus ácidos para reducir el nivel de colesterol en la sangre, disminuir la presión arterial, y también para prevenir la arterosclerosis, con lo cual previene el riesgo de enfermedad vascular o ayuda a la recuperación después de algún accidente de este tipo, como infarto, angina de pecho...etc. Rebaja el nivel de azúcar en la sangre y previene o ayuda a combatir la diabetes.

Posee un gran efecto diurético, favorece la eliminación de líquido en el cuerpo, por lo que resulta interesante no solamente en caso de obesidad, sino también en aquel conjunto de dolencias que mejoran con la eliminación de agua y la consiguiente eliminación de toxinas y especialmente el ácido úrico: enfermedades circulatorias, hepáticas, gota, artritis, etc.

Estudios recientes han demostrado la influencia que tienen los ácidos cafeico, pantoteico y los flavonoides en la prevención o mejoría de los procesos cancerosos.

Evita la sequedad en los ojos. La decocción de alcachofa ayuda a fortalecer los ojos y puede servir como colirio natural en casos de sequedad ocular.

## 2. BORRAJA



**Figura 8.** Borraja.

2.1. **Nombre vulgar:** borraja

2.2. **Nombre científico:** *Borrago officinalis* L.

2.3. **Familia:** Boragináceas

2.4. **Hábitat:** En lugares donde abundan los restos orgánicos.

**2.5. Características:** Planta anual muy hispida de la familia de las boragináceas de hasta 60 cm de altura. Tallos erectos cubiertos de cerdas. Hojas inferiores pecioladas, ovales, en roseta basal; hojas superiores sésiles. Flores agrupadas en cimas péndulas, con corola de hasta 2,5 cm., azul y con estambres en agrupamiento cuneiforme de color púrpura.

Las borrajas destacan por su elevado contenido en agua y su bajo contenido en grasas e hidratos de carbono.

**2.6. Componentes:**

- Agua 93%
- Grasas e Hidratos de carbono 3%
- Ácidos: acético, láctico (planta) ascórbico, nicótico (hojas)
- Azúcares: arabinosa, galactosa (Planta)
- Vitaminas: (beta-caróteno), C (ácido ascórbico), Colina (Hojas), vitamina B.
- Minerales: calcio, hierro, magnesio y fósforo (hojas) cobalto (planta)
- Fibra (planta)
- Mucílago (planta)
- Taninos (planta)
- Alcaloides (planta)

**2.8. Propiedades:**

Por su gran cantidad de agua y su reducido porcentaje de calorías son ideales para las dietas de adelgazamiento y para todas aquellas personas que presenten problemas de obesidad, retención de líquidos por insuficiencia cardiaca, artritis reumatoide, gota, insuficiencia renal, embarazo, menopausia, etc.

Las vitaminas C y A constituyen dos de los mejores antioxidantes, capaces de neutralizar los efectos negativos de los radicales libres, que pueden ocasionar muchas enfermedades de carácter degenerativo, entre ellas el cáncer. Se ha demostrado que la ingestión de alimentos de hoja verde puede reducir drásticamente la aparición de cáncer de colon. En esta propiedad influye tanto las propiedades antioxidantes de estas vitaminas como su riqueza en fibras solubles la cual aumenta el tránsito intestinal y

favorece una mayor rapidez en la expulsión de las heces. Esto determina que las toxinas permanezcan menos tiempo depositadas en el intestino por lo que tienen menos probabilidades de actuar sobre las células de las paredes intestinales y desarrollar tumores en las mismas.

La vitamina A de las borrajas se presenta en forma de carotenos. Estos se transforman en vitamina A en el organismo. Las propiedades de esta vitamina son diversas. La falta de este elemento produce ceguera nocturna, fatiga, dientes o piel en mal estado, mayor facilidad a contraer infecciones. La vitamina A es necesaria para mantener sanos los huesos y la piel, para proteger la vista, para la formación de los glóbulos rojos, y para reparar los accidentes que sufren los tejidos corporales.

Las borrajas contienen fibra soluble en forma de mucílagos. Los mucílagos son los que le otorgan el aspecto gelatinoso y pegajoso a las borrajas cocinadas.

Los mucílagos, además de prevenir el estreñimiento, son muy importantes para bajar el nivel de colesterol en la sangre así como para estabilizar los niveles de azúcar en la sangre, por lo que este tipo de fibra resulta adecuada para la alimentación de los enfermos de diabetes o para proteger las mucosas internas, por lo que su uso resulta adecuado para el tratamiento de las irritaciones del aparato digestivo (gastritis, acidez de estómago, dolor de estómago, indigestión, etc)

No debemos olvidar tampoco la capacidad de los mucílagos para envolver las toxinas intestinales y reducir los efectos negativos de estas sustancias sobre las células de las paredes del intestino, así como su capacidad, al aumentar los movimientos intestinales, para expulsar estas toxinas a través de las heces. Por todo ello, se ha considerado que la fibra soluble ayuda a prevenir el cáncer de colon y otros tipos de cáncer.

Además de contener mucho magnesio y sodio, ya mencionados anteriormente, las borrajas contienen cantidades elevadas de calcio, hierro y fósforo. El calcio y el fósforo resultan muy interesantes en el desarrollo de los huesos y en la prevención de la pérdida ósea por osteoporosis. El hierro es fundamental para la formación de los glóbulos rojos y en la prevención de la anemia.

Favorece la eliminación de orina del organismo, siendo por lo tanto muy interesante su uso, no solamente en caso de obesidad, sino también cuando conviene, a través de la orina, eliminar toxinas del cuerpo, como en las enfermedades reumáticas, hepatismo, problemas cardíacos etc. Aquí seguramente influye el hecho de contener en sus hojas la

colina, elemento que forma parte del complejo de la vitamina B, imprescindible en el metabolismo de las grasas y cuya ausencia puede llegar a producir cirrosis, aumento de la presión arterial o problemas renales.

Aumenta el sudor por lo que, además de los usos anteriores es particularmente interesante para ayudar a combatir las enfermedades del pecho: tos, anginas, bronquitis, resfriado, etc.

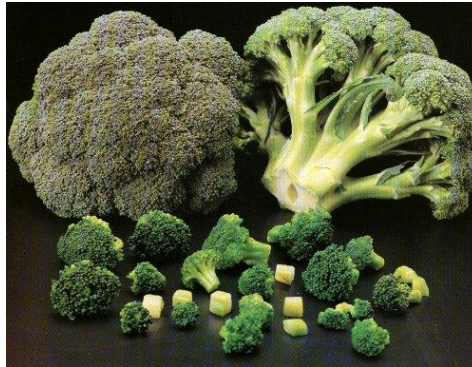
Entre todas estas propiedades de la borraja también podemos decir que es muy adecuada en caso de inflamación de la próstata y prostatitis y para equilibrar el exceso de hormonas suprarrenales que se produce en una situación de estrés.

En cuanto a su uso externo es beneficiosa para las afecciones de la piel (granos, pústulas, furúnculos, herpes, etc.) y tiene un efecto tonificante de la misma, aumentando su fortaleza y mejorando su aspecto. Influye en estas propiedades la presencia del ácido nicótico o niacina que es muy útil en la prevención de enfermedades de la piel, así como los trastornos nerviosos o gastrointestinales.

El aceite de borraja es muy rico en ácido gamma- linolénico que nuestro organismo transforma en prostraglandinas. Las propiedades de este componente, se aprovechan en forma de suplementos para tratar la presión arterial alta (dilata las arterias y favorece el riego sanguíneo), regula los niveles de colesterol y regula la producción de hormonas (estrógenos).

Se trata de un vegetal muy rico en ácidos grasos esenciales, como el ácido gammalinolénico, extremadamente valioso, y el ácido linoleico. Absorbido por vía oral, permite combatir eficazmente la desecación cutánea, origen del envejecimiento prematuro de la piel, mejora la hidratación y al estar mejor nutrida la piel, se vuelve más suave y adquiere un aspecto más agradable, produce un efecto tonificante de la misma, aumentando su fortaleza y mejorando su aspecto, utilizada para combatir enfermedades de la piel, en dermatitis atópica, ictiosis, psoriasis, sequedad y envejecimiento cutáneo.

### 3. COL-BRÓCOLI



**Figura 9.** Col-Brócoli

3.1. **Nombre vulgar:** Col

3.2. **Nombre científico:** *Brassica oleracea L.*

3.3. **Familia:** Crucíferas

3.4. **Hábitat:** Junto a los caminos, herbazales, y campos cultivados.

3.5. **Características:** Planta herbácea anual o perenne de la familia de las crucíferas que puede llegar a los 300 cm de altura. Tallos glabros ascendentes leñosos, con señales foliares. Hojas superiores sésiles; inferiores mucho más carnosas, pecioladas y con lóbulos. Flores amarillas de hasta 2,5 cm, agrupadas en racimos muy poco compactos. Frutos de hasta 8 cm.

La col es una planta que ha tenido una importancia fundamental en Europa desde la antigüedad. Conocida por los celtas y muy apreciada por los griegos que la servían en comidas públicas e incluso aparecía mencionada en los guiones de comediógrafos como Epicarmo (S. VI A. C) cuyos personajes aconsejaban su uso para curar enfermedades.

En la época romana, aparece citada por Catón en su obra " De re rustica " como remedio para trastornos intestinales o pulmonares y, sobre todo, para incrementar la producción de leche en las mujeres que daban el pecho.

Es muy difícil precisar el momento exacto en que la col (*Brassica Oleracea L.*) llegó a América, pero lo que sí que es cierto es que esta planta tuvo un papel fundamental en este continente por la importancia que los nativos daban a las plantas silvestres comestibles. En estudios realizados por colonizadores, pocos años después del descubrimiento, (Bernal Díaz del Castillo, en 1538) revelan como las plantas comestibles, conocidas como quelites, jugaban un papel fundamental en la vida de los indígenas. Incluso hoy en



día estas plantas tienen un valor muy importante para la población, especialmente la urbana hasta el punto de que más de 300 especies de plantas superiores están consideradas como tal, usándose como verduras, especias y plantas curativas. Para los aztecas estas plantas todavía tenían más importancia que la que poseen hoy en día. Parece ser que los conquistadores despreciaban estas plantas silvestres e iban introduciendo las suyas propias. La col, sin embargo, fue una de las pocas que fue aceptada como sustituta de las plantas nativas. Incluso a lo largo de los siglos ha llegado a considerarse como una quelite más.

### 3.6. Componentes:

- Aminoácidos: *Alanina* (interesante en cuanto interviene en la producción de anticuerpos), *Arginina* (esencial en la eliminación del amoníaco, reparación de los tejidos y construcción muscular), *Ácido ascórbico* (vitamina C, esencial en la prevención de enfermedades como el escorbuto, juega un papel fundamental en la formación del colágeno), *Cistina* (funcionamiento hormonal), *Ácido fólico* (vitamina B), *Acido glutamínico* (mejora las condiciones mentales, previene la esquizofrenia y vitaliza el organismo), *Leucina* (crecimiento infantil, equilibrio del nitrógeno), *Niacina* (metabolismo de las grasas, prevención de la hipertensión y reducción del colesterol), *Tirosina* (tiene mucha importancia en la lucha contra la depresión así como en el buen funcionamiento de la glándula pituitaria y de la tiroides), *Sulfóxido de S-metilcisteína...etc*

- Amoníaco

- Nitratos

- Luteína

- Proteínas

- Quercetina

- Mucílagos

- Elementos químicos: bromo, aluminio, bario, calcio, flúor, magnesio, fósforo, azufre (en cantidades muy elevadas, interviene en el crecimiento óseo y en la eliminación de toxinas del cuerpo).

### 3.7. **Propiedades:**

Ayuda a eliminar los líquidos acumulados en el cuerpo, por lo que resulta eficaz en el tratamiento de la diabetes, obesidad, ácido úrico y enfermedades del corazón asociadas a la retención de líquidos. También en enfermedades de tipo reumático, como artritis, reuma, etc. En este sentido se la relaciona con otros alimentos que cumplen el mismo cometido, como la cebolla, el apio, el limón.

Por su contenido en glutamina constituye uno de los mejores antiácidos naturales, ideal para el tratamiento de las úlceras de estómago o de duodeno, así como la colitis ulcerosa.

Posee gran capacidad para reparar los tejidos y los músculos, por sus propiedades antiinflamatorias y antiácidas y su elevado contenido en vitamina C puede ayudar a prevenir las infecciones intestinales, como las que pueden producirse en la diverticulosis, previniendo la infección de los divertículos o ayudando a disminuir la infección si se produce diverticulitis. Posee ácidos cafeico y clorogénico que le confieren propiedades antitiroideas.

Es útil para aliviar las afecciones de los bronquios, combatir la ronquera, haciendo que la voz sea más clara y agradable.

En cuanto a su uso externo es eficaz sobre las afecciones de la piel; granos, pústulas, ampollas, quemaduras, quemaduras solares, verrugas, etc. También calma el profundo dolor de la ciática y alivia el dolor en las inflamaciones de mama o en las mastitis cuando este responde a una inflamación por la lactancia.

## 4. **ESPÁRRAGO**



**Figura 10.** Espárrago.

### 4.1. **Nombre vulgar:** Espárrago

4.2. **Nombre científico:** *Asparagus officinalis*

4.3. **Familia:** Liliáceas.

4.4. **Hábitat:** Zonas arenosas y secas.

4.5. **Características:** Los espárragos son las yemas tiernas de la esparraguera (*Asparagus officinalis*), un arbusto enmarañado que crece espontáneamente en muchas regiones del mundo, especialmente en zonas arenosas y secas del sur de Europa, norte de África y oeste de Asia. Más abundantes que en ningún otro sitio aparecen en las estepas rusas o polacas, cubriendo enormes extensiones y constituyendo un pasto muy habitual para el ganado. Pertenece a la familia de las liliáceas, entre las que se encuentran plantas tan conocidas en jardinería como los lirios o los tulipanes, pero también alimentos como los ajos o las cebollas.

Como planta cultivada puede encontrarse prácticamente en todas las zonas del mundo. De éstas se obtienen los espárragos blancos, más gruesos que los espárragos silvestres o también llamados espárragos trigueros.

4.6. **Componentes:**

- Ácido fólico
- Ácido glicérico
- Ácido glicólico
- Saponinas
- Betacaroteno
- Aminoácidos: asparragina y arginina
- Potasio, Hierro, Zinc y Fósforo
- Vitamina C y E
- Vitaminas del grupo B
- Son muy ricos en fibra.

4.7. **Propiedades:**

Constituye, junto a la remolacha roja, un vegetal con propiedades rejuvenecedoras, cuyo consumo puede mantener la juventud durante más tiempo. Esta propiedad viene aportada por la presencia del ácido fólico, del cual esta planta es una de las que posee en

más cantidad. Este ácido contribuye a la creación de células nuevas y también, junto con el hierro, en la producción de glóbulos rojos. También interviene en la creación del aminoácido metionina, cuya existencia es necesaria para la buena salud del cabello, las uñas o la piel. Su consumo hace que nuestra piel tenga un aspecto más joven y más sano. Otro de los elementos rejuvenecedores es el cinc, muy importante para la buena salud del cerebro y como elemento que incrementa la fertilidad y potencia la libido. De igual manera resulta interesante para la buena salud del cabello, previniendo la aparición de la calvicie o caída del cabello (alopecia). Para aprovecharnos de estas propiedades sería conveniente comer este alimento crudo, dado que el ácido fólico se pierde con la cocción. Esto es posible si se rayan los espárragos y se toman en láminas delgadas en ensalada.

Junto con la zanahoria y especialmente las espinacas constituyen una buena fuente de betacaroteno o provitamina A, que se convierte en esta vitamina en nuestro cuerpo, elemento que resulta muy importante para la buena salud de las arterias, la piel, la vista o el estómago, constituyendo un potente depurativo anticancerígeno.

Es un alimento muy adecuado para los que sufran retención de líquidos, por lo que deberán comerlo habitualmente los obesos o artríticos o, quienes pretendan rebajar peso. Entre los componentes que ejercen esta función diurética se encuentran la asparragina y la arginina, dos aminoácidos muy abundantes en esta planta, así como los ácidos glicérico y glicólico y fundamentalmente por la acción de las saponinas. Su poco contenido calórico permite comer abundantemente sin aumentar el peso. Igualmente su riqueza en potasio que interviene en la eliminación de líquidos corporales y en otros procesos muy interesantes como la calcificación ósea, el buen funcionamiento del corazón, del sistema nervioso o la construcción de la masa muscular. Respecto a este tema, hay una fuerte discusión sobre si los espárragos disuelven los cálculos de riñón o si los responsables de originarlos. La opinión más generalizada parece estar a favor del primer punto. Así pues, además de combatir la obesidad, los espárragos deberían utilizarlos aquellas personas que sufran de hidropesía o acumulación de líquidos en el organismo; los que sufren de arenillas en los riñones, o aquellas personas que, debido a un trabajo sedentario, retienen agua o toxinas en las articulaciones.

Su riqueza en fibra puede aprovecharse para evitar el estreñimiento.

Los espárragos contienen muchos minerales y vitaminas, por lo que resultan muy adecuados para realizar curas de espárragos en primavera, que limpiarán el organismo y

evitaran la aparición de debilidad. Son muy ricos en vitamina C, otro antioxidante fundamental, encargado de eliminar los residuos que se acumulan en el organismo por ingestión de preparados envasados comercialmente, ricos en conservantes y colorantes que producen nitrosaminas muy perjudiciales para la salud. Necesaria también para la formación del colágeno, que es la base para los huesos, nervios o tendones, o la absorción del hierro y cuya deficiencia provoca problemas de cicatrización, mal estado de los dientes o falta de energía en general. Contienen abundante vitamina E que favorece la oxigenación de las células, incrementando el vigor corporal y, al igual que la vitamina C, constituye un antioxidante esencial al neutralizar los radicales libres. Previene la degeneración del corazón, incrementa la libido y evita el sangrado espontáneo. Por su gran contenido en vitaminas del grupo B y fósforo resultan muy adecuados para combatir la astenia primaveral, eliminar los problemas de nervios o fortalecer la mente.

En su uso externo puede utilizarse para eliminar las manchas de la cara.

## 5. JUDÍA



**Figura 11.** Judía

5.1. **Nombre vulgar:** Judía.

5.2. **Nombre científico:** *Phaseolus vulgaris* var. *vulgaris*

5.3. **Familia:** Leguminosas.

5.4. **Hábitat:** En bosques tropicales lluviosos y en bosques secos.

5.5. **Características:** Las judías, también llamadas frijoles, habichuelas o alubias, son plantas alimentarias de la familia de las papilionáceas, en la que se encuentran árboles tan conocidos como el algarrobo o el árbol del amor; arbustos como la coronilla; o hierbas como el trébol. Las habas, son otra especie de papilionácea

utilizada en alimentación por el valor alimenticio de las semillas encerradas dentro de sus vainas.

Las judías pertenecen al género *Phaseolus*. En general son plantas que presentan variedades con tallos erectos o en forma de liana, tumbados o trepadores. Mediante sus tallos volubles, poseen la capacidad de enroscarse sobre cualquier soporte que se encuentre a su alcance. Hojas compuestas, trifoliadas, con el foliolo central más o menos romboidal y los laterales ovalados. Flores de color blanco, manchadas de violeta o amarillo. Frutos en legumbre con vaina de color verde en cuyo interior se encuentran las semillas. Tanto las vainas cuando son tiernas como las semillas son comestibles.

Cultivadas en muchas regiones del mundo, nos encontramos en la actualidad con gran variedad de tamaños y colores. El desarrollo de numerosas variedades y las diferentes técnicas de cultivo ha permitido que tengamos la posibilidad de utilizar en nuestra alimentación tanto las semillas de estas plantas como el fruto entero cuando esta inmaduro.

#### 5.6. Componentes:

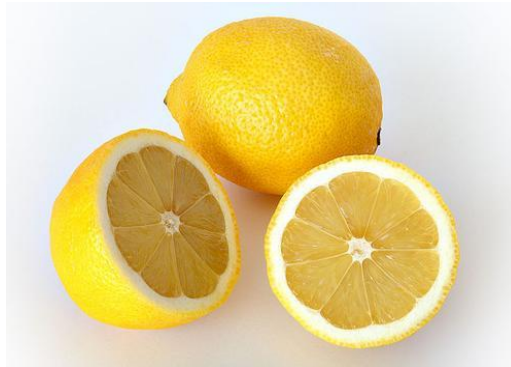
- Almidón
- Fibra
- Potasio, Calcio
- Yodo, Fósforo, Hierro y Magnesio
- Cromo
- Contiene Sodio pero en pequeñas cantidades
- Vitamina C
- Folatos
- Betacaroteno
- Vitamina B2 y B6

#### 5.7. Propiedades:

Las judías verdes son un alimento con un bajo aporte calórico, el cual se debe a la presencia de hidratos de carbono, como el almidón, que se encuentran concentrado en sus semillas, así como a la presencia de una pequeña cantidad de proteínas. Son una

buena fuente de fibra, aunque su contenido es menor al que encontramos en otros vegetales. Entre sus minerales destaca la presencia de potasio y calcio, y en menor proporción, yodo, fósforo, hierro y magnesio. Éste último forma parte de la molécula de clorofila, pigmento al que las judías deben su característico color verde. También contiene cantidades apreciables de cromo. El calcio y el hierro vegetal apenas se asimilan en nuestro cuerpo si se compara con los alimentos de origen animal. Cabe decir que las judías verdes son una de las verduras más pobres en sodio debido a que son muy sensibles a la concentración de sal del suelo. El potasio es necesario para la transmisión y generación del impulso nervioso y para la actividad muscular normal. Actúa en el equilibrio de agua dentro y fuera de la célula. El magnesio se relaciona con el funcionamiento de intestino, nervios y músculos, forma parte de huesos y dientes, mejora la inmunidad y posee un suave efecto laxante. El fósforo forma parte de huesos y dientes, y participa en procesos de obtención de energía. En cuanto al contenido en vitaminas de las judías verdes, son buena fuente de vitamina C, folatos, y beta-caroteno, así como de B2 y B6, presentes en menor cantidad. Los folatos intervienen en la producción de glóbulos rojos y blancos, en la síntesis de material genético y en la formación de anticuerpos del sistema inmunológico. El beta-caroteno es un pigmento natural que confiere el color amarillo-anaranjado-rojizo a los vegetales. Este carotenoide tiene la particularidad de que el organismo lo transforma en vitamina A conforme lo necesita. También efectúa una acción antioxidante. En el caso de las judías verdes, el beta-caroteno está enmascarado por la clorofila, pigmento de color verde más abundante. La vitamina A es esencial para la visión, el buen estado de la piel, el cabello, las mucosas, los huesos y para el buen funcionamiento del sistema inmunológico. La vitamina C también cumple una acción antioxidante e interviene en la formación de colágeno, huesos, dientes y glóbulos rojos. Favorece asimismo la absorción del hierro de los alimentos, además de aumentar la resistencia frente a las infecciones. La vitamina B2 se relaciona con la producción de anticuerpos y de glóbulos rojos. Participa en la producción de energía y en el mantenimiento del tejido epitelial de las mucosas, mientras que la vitamina B6 o piridoxina colabora en el metabolismo celular y en el funcionamiento del sistema inmunológico.

## 6. LIMÓN



**Figura 12.** Limón

6.1. **Nombre vulgar:** Limón

6.2. **Nombre científico:** *Citrus limonum*

6.3. **Familia:** Rutáceas

6.4. **Hábitat:** Cultivado por sus frutos o como árbol de jardín en zonas cálidas mediterráneas junto al mar.

6.5. **Características:** El limonero es un árbol de hasta 4-5 metros de altura, de tronco liso, con ramas y hojas jóvenes de una tonalidad rosada. Las hojas adultas son grandes, ovales, duras, con un largo pecíolo en cuya base aparece una espina. Las flores están formadas por cinco pétalos blancos, rosado por la cara externa y blancos por la cara interna. El fruto, el limón, de unos 7 a 12 cm de longitud, tiene forma oblonga u oval, mamilado hacia los extremos; su superficie muy rugosa, es de color amarillo intenso; su piel, no muy gruesa, protege la parte carnosa, dividida en gajos, muy ácida. Semillas pequeñas, ovoides y puntiagudas.

6.6. **Componentes:**

- Flavonoides: Hesperidósido, Limocitrina en el pericarpio de los limones.
- Ácidos: Ascórbico, Cítrico, Caféico.
- Aceite esencial: rico en isopulegol, alfabergamoteno, alfa pineno, alfa terpineno, alfa tujeno, beta bisolobeno, beta bergamoteno, beta felandreno, citral, limoneno y sabineno.
- Cafeína
- Pectina
- Minerales: Potasio y Calcio.



### 6.7. Propiedades:

El limón es un fruto muy rico en vitamina C. Esta riqueza le viene dada por su contenido en ácido ascórbico, que representa casi el 5 %. Muchos productos farmacéuticos con ácido ascórbico tienen su origen en esta planta, una de las principales fuentes de esta vitamina, junto con la lima (*Citrus acida*). De hecho, todos los cítricos (naranjas, limones, pomelos, etc.) contienen cantidades elevadas de este principio.

Tradicionalmente, el limón fue utilizado para prevenir el escorbuto una enfermedad que se presenta cuando la persona presenta una deficiencia de esta vitamina. El escorbuto era muy habitual entre los navegantes, los cuales se alimentaban fundamentalmente de alimentos secos o salados. La falta de ingestión de alimentos frescos causaba numerosas bajas entre ellos.

La ventaja del limón es que, además de la vitamina C, contiene numerosos flavonoides los cuales, protegen esta vitamina e impiden que se degrade. Los limones que los navegantes llevaban en sus bodegas constituían auténticas pastillas naturales gigantes de vitamina C y otros antioxidantes.

En la actualidad el escorbuto solo aparece muy raramente en poblaciones muy pobres, aunque no por ello deben deshecharse las propiedades alimentarias de este fruto cuyos valores van mucho más allá de la prevención de esta antigua plaga. Entre las principales virtudes de este alimento se encuentran sus propiedades antioxidantes, capaces de prevenir la actividad negativa de los radicales libres. El limón contiene casi 30 componentes antioxidantes además de la vitamina C, como, por ejemplo, los flavonoides: rutina, hesperidina, naringenina o luteína; betacarotenos; o los ácidos cafeico, ferúlico o gamma terpineno. Por lo tanto, comer esta fruta en abundancia será muy interesante si queremos mantenernos jóvenes y queremos prevenir la aparición de numerosas enfermedades. Resulta especialmente adecuado en personas que pueden presentar deficiencias como fumadores, diabéticos, alérgicos, asmáticos, mujeres embarazadas o lactantes o personas que sufren estrés.

Comer limón nos ayudará también a tener un aspecto externo más saludable, dado que esta vitamina ayuda a mejorar la salud de la piel, el cabello, o las uñas. Muchas anomalías de esta parte del cuerpo pueden evitarse o mejorarse: piel seca o arrugada, cabellos con poca vitalidad, uñas frágiles, etc.

No se debe olvidar tampoco la importancia que esta vitamina tiene en la salud de la vista al prevenir enfermedades degenerativas tan importantes como la pérdida de visión o las cataratas. En el mundo actual, en que muchos de los trabajos fuerzan la visión, comer limón ayudara a mantener una mejor salud visual.

Igualmente importante resulta la vitamina C, junto con la rutina y la hesperidina, en el mantenimiento de las arterias al conseguir mejorar la elasticidad de las mismas y evitar los derrames que se producen en las venas y capilares. Comer limón o beber jugo de limón ayuda a prevenir la hipertensión, controla la aparición de hemorroides o varices y evita la formación habitual de moretones, o de pequeñas hemorragias en las encías, o en la nariz.

La riqueza en aromas de este fruto estimula la producción de saliva y el ácido ascórbico contribuye a aumentar los ácidos estomacales y la producción de la hormona pepsina. Así pues, por una parte, despierta el apetito en caso de inapetencia y, por otra parte, ayuda a mejorar la digestión. El mayor aumento de ácido clorhídrico ayuda a disgregar mejor los alimentos y la pepsina posee propiedades proteolíticas es decir ayuda a digerir mejor las proteínas.

Todo ello favorece la digestión y evita otros problemas secundarios como la sensación de "llenado" o la aparición de gases.

Es bien conocida la capacidad del limón para "disolver las grasas" lo cual se ha venido aprovechando como un buen recurso en las dietas para adelgazar. No debemos olvidar que este fruto es muy rico en componentes con propiedades adelgazantes. Entre estos tenemos su riqueza en cafeína, un estimulante metabólico, su riqueza en fibras, especialmente pectina, que ayuda a disminuir la absorción de grasas.

Además de estos componentes habría que mencionar su riqueza en potasio y calcio, los cuales poseen propiedades diuréticas dado que controlan el intercambio de líquidos en la célula y neutralizan el sodio. Ambos componentes, junto con el ácido cafeico y el ácido ascórbico, favorecen la eliminación de líquidos corporales por lo que resultan de ayuda en las dietas para perder peso.

Eliminar líquidos no solo es interesante para controlar el peso corporal, sino que resulta de gran ayuda en el tratamiento de otras enfermedades metabólicas en las que resulta necesario una depuración del organismo: artritis, gota, ácido úrico, etc. El jugo constituye uno de los mejores remedios depurativos de la sangre al eliminar las toxinas

de la misma por lo que ayuda a combatir las enfermedades de los gotosos y reumáticos, aliviando el dolor y desinflamando las articulaciones afectadas. Incluso se ha utilizado para el proceso de desintoxicación de personas que consumen habitualmente narcóticos.

Muchos especialistas consideran que el consumo de limones y otros cítricos podría ser adecuado para prevenir la aparición de numerosos tipos de cáncer. Estudios científicos han demostrado que aquellas personas que comen habitualmente cítricos tienen más de un 50 % de probabilidades de no contraer cáncer de estómago. Se cree que la vitamina C inhibe el crecimiento de células cancerosas. Se ha comprobado como, a pesar de su sabor tan ácido, en realidad el consumo de esta fruta ayuda a prevenir la gastritis que en algunos casos podría ser también responsable del desarrollo de células tumorales en la mucosa gástrica. Además el consumo de este fruto podría prevenir la formación de tumores en el colon.

La vitamina C favorece la absorción del calcio y del hierro. Por lo tanto, resulta muy adecuado comer limones o beber jugo de limón para que el organismo sea capaz de producir más hierro, lo que contribuye a la prevención de la anemia o favorece una mayor salud de los huesos y previene la osteoporosis al permitir que el organismo absorba más calcio . Las personas vegetarianas deberán ser especialmente cuidadosas en aportar este alimento habitualmente o incluir otros cítricos en su dieta habitual para no presentar problemas de deficiencia de estos minerales.

## 7. PIMIENTO



**Figura 13.** Pimiento

7.1. **Nombre vulgar:** Pimiento

7.2. **Nombre científico:** *Capsicum annuum*

7.3. **Familia:** Solanáceas.

7.4. **Hábitat:** Puede tolerar la mayoría de los climas, pero es especialmente productiva en zonas cálidas y climas secos.

7.5. **Características:** El pimiento es una planta herbácea, de hábito perenne en condiciones naturales, pero cultivada como anual en la mayoría de los casos, debido a su susceptibilidad a heladas y a daño por enfriamiento. Estas tienen hábito arbustivo y tienden a alcanzar los 75 cm de altura. El tallo presenta ramificación dicotómica y sobre las ramas se disponen hojas de tamaño medio, enteras, de forma oval-oblonga, glabras y de color verde intenso. Las flores son perfectas y se presentan solitarias en las axilas de las ramificaciones; son de tamaño pequeño (1 cm), con cáliz dentado, cinco pétalos de color blanco y anteras amarillenta-azules o púrpuras. El fruto de la especie es una baya de características muy variables, con pesos que fluctúan entre unos pocos gramos hasta medio kilo, la forma varía entre redonda, acorazonada, aguzada, cilíndrica y cuadrada, con color externo de blanco a negro, aunque predominan los colores amarillos, verdes y rojos.

La pimentera (*Capsicum annuum*) es una planta procedente de América de la familia de las solanáceas, al igual que la patata y el tomate. Su cultivo se encuentra prácticamente extendido por todo el mundo. Es especialmente importante en el este y sur de Asia, donde su fruto forma parte de la cocina tradicional, apareciendo en multitud de platos. Dentro de esta misma especie podemos encontrar variedades que van desde el pimiento verde dulce hasta los pimientos picantes. Los pimientos rojos constituyen una fuente abundante de vitamina C, A y licopeno, constituyendo uno de los alimentos desintoxicantes más importantes.

#### 7.6. Componentes:

- Ácido ascórbico.
- Licopeno
- Betacaroteno
- Triptófano.
- Capsaicina.

#### 7.7. Propiedades:

Los pimientos, especialmente los pimientos rojos maduros, constituyen una fuente excelente de vitamina C, superando a los cítricos (naranjas, limones, pomelos, etc.) y

siendo una de las plantas del mundo que posee más cantidad, después de la acerola (*Malpighia glabra L*) o del escaramujo (*Rosa canina*), por lo tanto son un alimento esencial para los que buscan una dieta desintoxicante. Es igualmente importante esta vitamina para la adecuada absorción del hierro, del calcio o de otros aminoácidos. De igual manera ayuda en la curación de las heridas. Su deficiencia provoca una debilidad general en el organismo, manifestada en síntomas como cabello frágil, encías que sangran, heridas que no cicatrizan, pérdida del apetito etc. Es especialmente interesante comer este fruto en épocas de convalecencia, después de haber pasado alguna enfermedad porque ayuda a incrementar las defensas.

Asimismo, y especialmente cuando esta bien maduro y rojo, contiene, junto a los tomates, un componente denominado licopeno que constituye, al lado de la vitamina C, uno de los mejores antioxidantes, encargados de descontaminar el cuerpo y liberarlo de la influencia negativa de los radicales libres.

Su contenido en betacarotenos es muy alto, inferior a la zanahoria, pero superior a la mayoría de los frutos. Al igual que el componente anterior ejerce un gran poder antioxidante. Igualmente, siendo ricos en triptófano, su ingestión ayuda a combatir los síntomas de la depresión.

Los pimientos estimulan el apetito, especialmente los pimientos picantes o chiles. Los pimientos dulces o picantes tienen bastante mala fama de ser muy "indigestos", lo cual no es cierto. Es verdad que los debemos masticar bien y que muchas veces la mala digestión de este fruto no se debe a él mismo, sino a su mala combinación con otros alimentos. Entre los productos más destacados de los pimientos se encuentra la especia "pimienta de Cayena" que se obtiene al moler algunas especies de pimientos picantes.

Curiosamente y, frente a esta opinión generalizada, los pimientos crudos son más digeribles que los cocidos y además favorecen la digestión al estimular los jugos gástricos y biliares. Incluso los pimientos picantes han demostrado tener un efecto positivo en la prevención de úlceras de estómago. El mismo componente picante (capsaicina) protege las membranas gástricas y parece impedir el desarrollo de úlceras tal como se ha demostrado en numerosos experimentos en animales.

Dentro las propiedades adecuadas del pimiento para el aparato digestivo hemos de mencionar también sus propiedades antidiarreicas y antivomitivas.

Por su alto contenido en agua resultan muy adecuados en la dieta para adelgazar, siempre y cuando los comamos crudos o asados. Además de su riqueza en agua, su gran dotación en fibra crea en nuestros estómagos una gran sensación de saciedad, lo que permite pasar un buen periodo de tiempo sin ingerir otros alimentos, dado que ellos se van asimilando poco a poco. Esta misma fibra arrastra los residuos fecales del intestino, evitando putrefacciones y actuando de laxante, por lo que, serán muy convenientes en aquellos que sufran de estreñimiento. Igualmente se ha demostrado como la ingestión de pimientos picantes incrementa el metabolismo y ayuda a eliminar grasas.

El pimentón o pimienta de cayena parece resultar efectiva en la cicatrización de las úlceras. La razón se debe a que esta sustancia incrementa la producción de mucus que recubre la mucosa intestinal protegiéndola.

Por su contenido en salicilatos y capsaicina, poseen propiedades analgésicas, siendo muy adecuados para calmar los dolores de las enfermedades reumáticas, neuralgias o dolores postoperatorios. Existen cremas que contienen capsaicina para aplicarlas en uso externo, en el tratamiento del dolor o afecciones de la piel, como la psoriasis, herpes, etc.

## 8. TOMATE



**Figura 14.** Tomate.

8.1. **Nombre vulgar:** Tomate

8.2. **Nombre científico:** *Lycopersicon esculentum* L.

8.3. **Familia:** Solanáceas

8.4. **Hábitat:** Terreno franco arenoso, suelto, rico en materia orgánica, drenados, de pH 5.5 - 6.8. Clima templado.

8.5. **Características:** Planta herbácea de tallo voluble, largo y cubierto por numerosos pelos. Las hojas son lobuladas con los bordes dentados. Las flores pentámeras se reúnen en ramilletes laterales y son amarillas. Aunque sus hojas son venenosas (pertenece a la familia de las solanáceas, que incluye al tóxico beleño y a la letal belladona), algún audaz campesino maya se percató de que el fruto era comestible. Esta planta silvestre rastrera mide de 50 cm a un metro de altura. Su fruto es de diferentes tamaños y formas: redondo, forma globosa, globosa aplanada u ovalada, dependiendo del tipo; su color es uniforme (anaranjado-rojo a rojo intenso; amarillo claro), su apariencia es lisa y con las cicatrices correspondientes a la punta floral y al pedúnculo. Dentro de la baya se contiene un gran número de semillas aplanadas y reniformes.

#### 8.6. Componentes:

- Licopeno.
- Glutation.
- Vitaminas: Vitamina A y C.
- Potasio.
- Calcio.
- Gammaaminoácidos butíricos (GABA).

8.7. **Propiedades:** Presentan en su composición una serie de elementos que resultan muy adecuados para desintoxicar el organismo y prevenir la aparición de muchas enfermedades:

El primero de ellos se denomina licopeno, un componente al cual deben su coloración roja. El licopeno reduce las probabilidades de cáncer de próstata, pulmón, estómago, vejiga, pulmón, mama, estómago y cuello del útero. Aparece en los tomates frescos, pero especialmente en los cocinados, dado que la cocción ayuda a liberar este elemento y facilitar la absorción por el organismo. Comer tomate en cualquier alimento cocinado con salsa de tomate puede constituir una buena manera de cuidar la salud, previniendo el cáncer, o reduciendo el colesterol.

El Glutation es otro componente con propiedades antioxidantes demostradas, que ayuda a eliminar los radicales libres, responsables de la aparición de muchas enfermedades, entre las que se encuentra el cáncer. Es un elemento muy adecuado en la eliminación de

las toxinas del cuerpo, especialmente de los metales pesados, que producen deterioro del organismo por acumulación de los mismos. Se ha comprobado como el tomate ayuda a eliminar eficazmente el plomo. Además de esta propiedad, debemos resaltar su capacidad para rebajar la presión arterial, favorecer el buen estado de nuestro hígado o prevenir el eczema.

Otros componentes beneficiosos para desintoxicar el organismo son la vitamina C y la vitamina A. El tomate es un fruto que presenta una gran riqueza de ambos. La vitamina A ayuda al crecimiento celular, manteniendo los huesos y los dientes en buen estado, ayudando al sistema inmunológico a combatir las infecciones, y a mantener una buena salud ocular. Cuando se descubrió, se pensó que solamente se podía obtener de los animales, concretamente del hígado y del huevo. Más tarde se descubrió que podía obtenerse a través de los carotenos y especialmente del beta-caróteno, que se encuentra en muchos alimentos vegetales especialmente la zanahoria. La vitamina A se considera una vitamina esencial, cuya dosis diaria se estima en unas 4000 - 5000 IU. Dosis más elevadas, sobre unas 25.000 IU, de manera continuada pueden resultar tóxicas, produciendo hipervitaminosis, que se manifiesta en forma de debilidad muscular, visión borrosa, pérdida del cabello, mal estado de la piel, diarrea, etc. No deben suministrarse suplementos de vitamina A en mujeres embarazadas para evitar que se produzcan anomalías en el feto.

Es muy rico en potasio, un mineral que interviene en la regulación de los líquidos corporales así como en el buen estado de los nervios, el corazón y de los músculos. Junto con el calcio, muy abundante también en el tomate interviene en el equilibrio del potasio y del sodio y en la formación de los huesos. Además de la riqueza en estos dos minerales, su contenido en gammaaminoácidos bútricos (GABA) los hace especialmente adecuados para rebajar la presión arterial.

Se considera que es un buen afrodisíaco dado que se ha comprobado que comer tomates frescos incrementa el deseo sexual.

Ayuda a curar las heridas de todo tipo, rebaja la inflamación y favorece la cicatrización.

Los tomates pueden utilizarse para el cuidado del cutis, pues debido a sus propiedades desengrasantes resultan muy adecuados para el tratamiento del acné.



## 9. ZANAHORIA



**Figura 15.** Zanahoria

9.1. **Nombre vulgar:** Zanahoria

9.2. **Nombre científico:** *Daucus carota*

9.3. **Familia:** Umbelíferas (Umbelliferae).

9.4. **Hábitat:** Pueden ser plantadas en huertos con suelo arenoso. Prefiere los suelos arcillo-calizos, aireados y frescos, ricos en materia orgánica bien descompuesta y en potasio, con pH comprendido entre 5,8 y 7. Es una planta bastante rústica, aunque tiene preferencia por los climas templados. La temperatura mínima de crecimiento está en torno a 9°C y un óptimo en torno a 16-18°C. Soporta heladas ligeras; en reposo las raíces no se ven afectadas hasta -5°C lo que permite su conservación en el terreno.

9.5. **Características:** La zanahoria es una verdura dura, bianual y de clima frío, que crece por la raíz gruesa que produce en la primera estación de crecimiento. Necesita dos años para completar su ciclo vegetativo, pero como se cultivan para aprovechar solamente la raíz, su recolección se realiza a los pocos meses de la siembra. Durante el primer año se forma una roseta de pocas hojas y la raíz. Después de un período de descanso, se presenta un tallo corto en el que se forman las flores durante la segunda estación de crecimiento. Flores de color blanco, con largas brácteas en su base, agrupadas en inflorescencias en umbela compuesta.

9.6. **Componentes:**

- En la raíz: Glucosa, sacarosa, mucílagos, pectina, vitaminas (C, B1, B2), proteínas, y sobre todo carotenos (Betacarotenos).
- En las semillas: Aceite esencial, conteniendo pineno, limoneno, carotol, daucol, ácido isobutírico, asarona.

### 9.7. Propiedades:

Las zanahorias son ricas en carotenos, unos compuestos que el hígado trasforma en vitamina A.

Los betacarotenos previenen la aparición de ciertos cánceres, especialmente contra el cáncer de pulmón y el de boca o impiden el desarrollo de células cancerosas, haciendo que estos procesos no pasen de un estadio primitivo.

Además, se ha comprobado el poder antioxidante de este componente. Su ingestión nos protege contra la acción destructiva de los radicales libres, que atacan nuestras células produciendo enfermedades degenerativas, como, el prematuro envejecimiento o la mala salud arterial.

Entre todas las propiedades medicinales de los betacarotenos podríamos mencionar las siguientes: anticancerosos, antimutagénicos, antitumorales, inmunoestimulantes, anticoronarios, antiulcéricos, antifotofóbicos, antidegenerativos.

Los carotenos poseen, pues, virtudes como las de proteger nuestras arterias o mantenernos jóvenes durante más tiempo. Su presencia en el cuerpo garantiza la buena salud de la visión, impidiendo la formación de las cataratas o la hipersensibilidad a la luz solar; el buen estado de la piel, de los dientes o de las encías. Su carencia puede manifestarse en una falta de visión - ceguera nocturna - , sequedad en la piel, acné juvenil o una mayor facilidad para las infecciones. Protegen nuestro estómago, impidiendo la formación de úlceras o nos ayudan a mantenernos más jóvenes durante más tiempo.

El consumo habitual de esta hortaliza puede ayudar a impedir o disminuir la toxicidad de las intoxicaciones alimentarias causadas por listeriosis. Similarmente, se utiliza el zumo de zanahoria para eliminar las lombrices intestinales. Consumir habitualmente este zumo ayuda a mantener el intestino libre de estos parásitos.

Las zanahorias son laxantes por lo que resultan útiles para evitar o solucionar el estreñimiento. Se ha comprobado como su ingestión favorece una buena regulación intestinal, previniendo la aparición del cáncer de colon o la diverticulosis que puede desencadenar episodios de diverticulitis. Al mismo tiempo, por su riqueza en pectinas, constituye un buen remedio para combatir la diarrea, resultando muy interesante en los casos de diarrea infantil. Además de carotenos, contienen mucha vitamina C y hierro por lo que resultan muy adecuadas para la salud infantil. Resultan muy digeribles y

ayudan al buen estado del aparato digestivo, así como a favorecer la formación de los glóbulos rojos, previniendo la anemia.

Comer zanahorias nos ayudará a disminuir el colesterol y prevenir la arteriosclerosis. Es un elemento alcalinizante, que ayuda a depurar la sangre.

Exteriormente puede utilizarse para curar los problemas de la piel, como eczemas, heridas o quemaduras, incluidas las producidas por el sol. Es muy útil para paliar la acción destructiva de los rayos ultravioletas, motivo por el cual forma parte en la composición de muchos filtros solares. Favorece además la tersura de la piel, eliminando las arrugas o evitando que aparezcan. Su capacidad para nutrir la piel y absorber las impurezas acumuladas sobre el cutis, la hace muy adecuada para la confección de mascarillas para el acné.

## **ELABORACIÓN DE LA FORMULACIÓN**

Cuando se pretende comercializar cualquier principio activo para su utilización en clínica, éste debe pasar por una serie de etapas encaminadas a la obtención de un preparado seguro y eficaz (Fiese y Hagen, 1986). Es necesario un trabajo multidisciplinar hasta la obtención de la forma de dosificación más adecuada para ese principio activo (Goto y cols, 1995; Wells y Aulton, 1988).

Por otro lado, es condición indispensable, para el desarrollo y la puesta a punto de la fórmula, tener siempre en cuenta el tipo de población a la que va destinada la forma farmacéutica que se va a desarrollar. En este trabajo se busca una forma de administración destinada a niños en edad preescolar y escolar (Giacioia y cols., 2007), por lo que, en este caso es importante desarrollar una fórmula cómoda de administrar y, que, en el caso de ser adicionada a las comidas, sea agradable al paladar de un niño.

El gran problema al que nos enfrentamos en la administración de fármacos a niños es la falta de preparaciones comerciales adaptadas a las dosis pediátricas. La disponibilidad en el mercado farmacéutico de productos adaptados a las necesidades de los niños, es escasa, son pocas las formulaciones que reclutan a los pacientes pediátricos, por lo que se hace necesario el desarrollo de nuevas formas farmacéuticas (Schirm y cols, 2003).

Como consecuencia de la escasa investigación, la población pediátrica se suele considerar "huérfana", desde una perspectiva tecnológica (Conroy y cols, 2000). La necesidad de cubrir las lagunas tecnológico-terapéuticas existentes en la población infantil, ha hecho surgir varias iniciativas con objeto de mejorar la prescripción y administración de fármacos y/o nutrientes a niños (Danés Carreras y cols., 2004).

En 2004 y 2005 se publicó un documento (Paedriatic Working Party; Formulations of choice for the paediatric population) cuyo objetivo principal fue estimular a la industria farmacéutica para que desarrollara y comercializara preparados adaptados a las necesidades pediátricas e informar sobre su uso en niños.

El desarrollo y composición de formulaciones pediátricas puede plantear un problema desafiante y este problema es el resultado de la falta de dosificaciones (Danés Carreras y

cols., 2002) formas farmacéuticas y excipientes que se acomoden a la formulación y al tipo de población a la que se destine (Cuzzolin y cols., 2003).

La preparación de formas de administración infantiles conlleva a la obtención de una forma de presentación que los niños estén deseosos por tomar, que sea “*atractiva*” (en sabor y en color), que sean capaces de digerirla y que proporcionen las concentraciones adecuadas al niño y al horario de la familia. Las fórmulas más usuales en niños y mejor estudiadas han sido las líquidas sin embargo existen niños que prefieren preparaciones masticables ya que se niegan a tragar un líquido. Las formas líquidas pueden presentar problemas de inestabilidad, contaminación, etc, además no podemos obviar los requisitos adicionales de los países en desarrollo como cadena de suministro, infraestructuras, escasez de agua o imposibilidad de frascos unidos (Brion y cols., 2003). Pese que, hasta el momento las formas líquidas han sido las más utilizadas, en la última conferencia de expertos sobre las formas de dosificación de medicamentos para los niños (que tuvo lugar en el marco de la Organización mundial para la salud, WHO, Londres 2009) se debatió cuales podían ser las formas de dosificación mejor aceptadas por la población pediátrica, destacando las formas farmacéuticas sólidas como gránulos y granulados que puedan ser suspendidas en agua, en un vehículo alternativo, o añadirse a productos alimenticios.

Por tanto, la solución a todos estos problemas podría estar en el desarrollo de formulaciones sólidas que permitan ser tragadas, chupadas o masticadas fácilmente y en las que al mismo tiempo se minimicen los problemas de estabilidad.

Para el desarrollo de la forma de dosificación, nos basamos en las dosis diarias recomendadas (DDR) de frutas y verduras para niños. Según esto, y en función de los rendimientos obtenidos para cada uno de los vegetales tras el proceso de deshidratación utilizado, se consiguió poner a punto la fórmula que finalmente se administraría al tipo de población elegida.

Las recomendaciones nutricionales de distintos organismos especializados en nutrición infantil aconsejan una dosis diaria recomendada de alrededor de una a tres raciones de vegetales crudos y frutas (Doménech y Estivill, 2004; Hagenbeck, 2005).

Asimismo y en base a las necesidades de vitaminas y minerales requeridas (Bes y Comellas, 2006), la fórmula desarrollada fue:

- Alcachofa	10%
- Borraja	10%
- Col-Brócoli	10%
- Espárrago	10%
- Judía	10%
- Limón	10%
- Pimiento	10%
- Tomate	10%
- Zanahoria	20%

## 2. OBTENCIÓN DE LAS FORMAS FARMACÉUTICAS

### 2.1. OBTENCIÓN DEL POLVO

El proceso de obtención del deshidratado comienza con la llegada de la materia prima, en nuestro caso, de los vegetales frescos al laboratorio. Éstos van a ser transformados en deshidratados vegetales mediante una serie de procesos detallados a continuación:

#### **Lavado.**

Los vegetales frescos son introducidos en un tren de lavado (Barcelona, España) (Figura 16). Éste está provisto de una cámara de lavado por la que circula una cinta sin fin, sobre la que se coloca el vegetal, y a medida que ésta se mueve el vegetal avanza y va siendo rociado, mediante unos chorros a presión, con una solución formada por agua e hipoclorito sódico para así eliminar impurezas.



**Figura 16.** Tren de lavado

### **Troceado.**

Se realiza mediante un molino pulverizador de cuchillas (VICENT MATEU tipo BM-39; Barcelona, España) (Figura 17). Se introduce poco a poco el vegetal fresco en el sistema de alimentación del dispositivo para su troceado, de tal manera que aumentamos la superficie específica de la muestra con la finalidad de que sea más fácil su posterior deshidratación.



**Figura 17.** Molino de cuchillas

El molino de cuchillas, es adecuado para la reducción del tamaño de partícula de materiales plásticos o fibrosos. Éste dispositivo consta de tres elementos básicos, como son, el sistema de alimentación del material que se va a pulverizar, la cámara de pulverización y el dispositivo de descarga. La cámara de pulverización incorpora un rotor que lleva adosado un número variable de cuchillas (generalmente comprendido entre 2 y 12), que ejercen un efecto cortante al coincidir con otra serie de cuchillas fijas situadas en la pared interna de la cámara. La velocidad operacional del molino de cuchillas es notablemente menor que la del molino de martillos, ya que se sitúa entre 200 y 900 rpm. En la parte inferior de la cámara de pulverización se dispone un tamiz de abertura de malla adecuada que permite la salida del producto pulverizado.

La velocidad del giro del rotor, las características del tamiz y la velocidad de alimentación del molino son los factores que van a condicionar la eficacia del proceso de pulverización. En este tipo de molino es particularmente importante la distancia de separación entre las cuchillas móviles y las fijas en posiciones coincidentes, así como un adecuado mantenimiento de sus filos. Este equipo puede clasificarse como un sistema de pulverización grosera e intermedia.

### **Deshidratación.**

Para este proceso se recurre a la utilización de un dispositivo deshidratador denominado CRIOX (ITALVACUUM; Italia) (Figuras 18, 19 y 20).



**Figura 18.** Deshidratador CRIOX



**Figura 19.** Rompegrumos



**Figura 20.** Contenedores del agua extraída

El sistema CRIOX, es un secador rotativo que trabaja a una presión de vacío capaz de extraer totalmente el agua y otros disolventes de los polvos húmedos procedentes de procesos de filtración o centrifugación. La parte central del sistema CRIOX está constituida por una cámara bicónica rotativa de velocidad variable, caracterizada por



líneas mórbidas sin aristas ni ángulos muertos. Durante la rotación del sistema, este tipo de estructura, simplifica la agitación continua de la masa que tiene que ser secada y permite que haya una mezcla homogénea y delicada. Dentro de la cámara secadora se encuentran dos cuchillos rompe-grumos con velocidad variable. Gracias a la rotación de la cámara, el grupo rompe-grumos entra y sale del producto con alternancia y se auto limpia una vez vaciada la cámara. Los cuchillos rompe-grumos disgregarán los eventuales bloques húmedos preexistentes en la masa. Durante el proceso de secado trituran y pulverizan el producto. Para los productos a granel, esto significa un producto final listo para el envasado, mientras que para los demás productos esto implica una granulometría final controlada. La acción mecánica de la cámara y de los cuchillos permite incrementar la superficie específica del producto expuesta a la evaporación y, de esa forma, permite también llevar a cabo un secado al vacío en tiempos reducidos y con una temperatura mucho más baja de las empleadas por cualquier otro secador. La temperatura utilizada por este dispositivo deshidratador es de 45-50°C, de tal manera que se evita el daño térmico que se puede realizar sobre el vegetal y también la pérdida de las propiedades nutricionales de éstos. La pureza de los productos más delicados que son termolábiles saca provecho precisamente de este proceso, considerando que no hay degradación y su integridad química es respetada. Además, la reducción de humedad es desde luego superior. De hecho los cuchillos pulverizadores penetran constantemente en el corazón de la masa y, de esta manera, aumentan la superficie expuesta a la evaporación.

**Pulverización.**

En este caso, la pulverización se realiza mediante un dispositivo pulverizador de paletas o martillos (NUEVO VULCANO; Barcelona, España) (Figura 21).



**Figura 21.** Molino de martillos

Este dispositivo consta de tres elementos básicos: el sistema de alimentación del material que se va a pulverizar, la cámara de pulverización y el dispositivo de descarga del material pulverizado. El molino de martillos lleva incorporado en la cámara de pulverización un rotor adosado a una serie de martillos (generalmente entre 4 y 10) y que gira a velocidad elevada, hasta 10000 rpm. En la parte inferior de la cámara hay un tamiz de abertura de malla adecuada que permite la salida del producto pulverizado. En este dispositivo la reducción del tamaño de partícula se produce mayoritariamente por impacto. La velocidad angular de los martillos es lo suficientemente elevada como para que al impactar con las partículas se transmita una fuerza suficiente para provocar la fractura de numerosos materiales. Debido a esto, los molinos de martillo son útiles para pulverizar materiales quebradizos. Permiten reducir el tamaño de partícula hasta valores comprendidos entre 20 y 50 micras, dependiendo de las características del material.

Al igual que en el molino de cuchillas, los factores que van a condicionar la eficacia del proceso de pulverización son la velocidad de giro del rotor, características del tamiz y la velocidad de alimentación del molino.

Introducimos el vegetal deshidratado en el molino y mediante impactos de unas partículas con otras y de las partículas con las paredes del dispositivo, conseguimos reducir el tamaño de las partículas y como consecuencia aumentamos la superficie específica de éstas.

## 2.2. OBTENCIÓN DEL GRANULADO

Los granulados están destinados a la administración por vía oral, algunos granulados se ingieren como tales, otros se mastican y otros se disuelven o dispersan en agua o en otros líquidos apropiados antes de ser administrados (RFE). Nuestro objetivo fue desarrollar dos tipos de granulados, uno sacaruro y otro efervescente, el primero está destinado a ser disuelto en la cavidad bucal mientras que el segundo será adicionado a las comidas, tales como zumos o yogures.

Teniendo en cuenta la fórmula desarrollada anteriormente con todos los vegetales deshidratados, la cual podemos ver en la página 80, nuestra finalidad fue buscar una forma de administración destinada a niños de edad escolar y preescolar, por lo que, un detalle muy importante en este trabajo fue desarrollar una fórmula cómoda de administrar y que adicionada o no a las comidas fuera agradable al paladar del niño.

El método de granulación elegido fue la vía húmeda. Se trata del método más utilizado en la industria farmacéutica, basado en la adición de un aglutinante disperso en un líquido para formar una disolución o una suspensión.

### 2.2.1. Granulado sacaruro

Esta granulación se lleva a cabo mediante la adición, sobre las sustancias a granular, de un líquido aglutinante, en este caso se trata de una solución preparada de jarabe simple, la cual posee gran poder de aglutinación.

Una vez asegurado que los vegetales deshidratados se pueden mojar y recibir calor, procedimos al mezclado de todos ellos junto con el resto de componentes de la fórmula, que en este caso sería una cantidad determinada de azúcar. El mezclado se realiza en un dispositivo mezclador de sólidos, denominado “mezclador con contenedor móvil o mezcladora cúbica” (Figura 22). Se trata de un bombo mezclador rotativo con forma de cubo, apto para mezclar sustancias sólidas muy distintas entre sí. Éste bombo puede llenarse como máximo hasta el 50% de su capacidad total, gira sobre su eje horizontal, en su interior, unas nervaduras longitudinales aumentan el efecto mezclador.



**Figura 22.** Mezcladora cúbica

La mezcla obtenida se lleva a un dispositivo mezclador de líquidos o amasador (Figura 23), es un dispositivo muy versátil ya que puede emplearse para la preparación de pastas, pomadas, cremas, disoluciones medicamentosas, etc. Este dispositivo funciona mediante un “agitador planetario”, consistente en un eje metálico con distintas formas, que posee un movimiento de rotación sobre sí mismo y simultáneamente, un movimiento de translación a lo largo de toda la superficie del recipiente. Este sistema planetario va girando, agitando la mezcla de polvos a la que se le va añadiendo poco a poco el líquido aglutinante, en este caso el jarabe simple, que va uniando las partículas entre sí, con el fin de conseguir formar una masa más o menos compacta, apta para la posterior granulación.



**Figura 23.** Mezclador-amasador

La mezcla amasada es granulada haciéndola pasar a través de unos tamices de luz de malla determinado, estos tamices pueden intercambiarse dependiendo del tamaño de

granulado deseado, en nuestro caso un tamaño de 2 mm. Para ello se usa un dispositivo denominado granuladora rotativa o granuladora de húmedos (Figuras 24 y 25), provista de unas palas o aspas, colocadas dentro del tamiz intercambiable, que va girando, y a su vez, empujando la masa humectada haciéndola pasar a través del tamiz, con lo que se obtienen unas tiras largas de masa de diámetro uniforme.

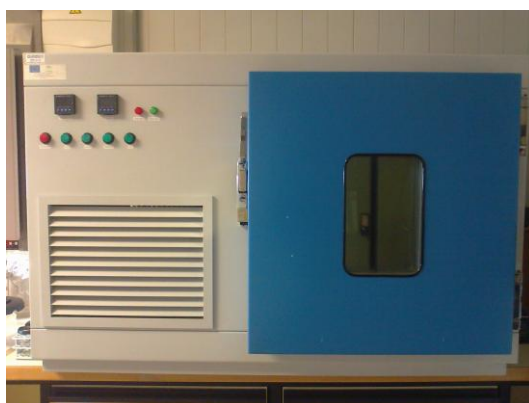


**Figura 24.** Granuladora



**Figura 25.** Aspa y tamiz intercambiable

Posteriormente, estas tiras largas son introducidas en unas estufas de desecación (Figura 26) y sometidas a unas temperaturas controladas durante un tiempo determinado. Es importante tener en cuenta que esta operación debe realizarse con cuidado ya que se puede eliminar el agua propia de la mezcla de los componentes de la formulación.



**Figura 26.** Estufa de desecación

Una vez terminada la desecación, las tiras son tamizadas de nuevo para obtener el tamaño de granulado deseado, para lo cual hacemos pasar el granulado, por un tamiz

(Figura 27) de luz de malla determinado. Se utilizan distintos tamices de luz de malla decreciente para eliminar los finos que se forman durante la elaboración del granulado.



Figura 27. Tamiz

### 2.2.2. Granulado efervescente

Los granulados efervescentes son granulados que contienen generalmente sustancias ácidas y carbonatos o hidrogenocarbonatos, los cuales reaccionan rápidamente en presencia de agua con liberación de dióxido de carbono. Están destinados a disolverse o dispersarse en agua u otros líquidos antes de su administración.

Para la elaboración del granulado efervescente se sigue la misma metodología descrita para el granulado sacaruro, siguiendo las mismas fases de elaboración y dispositivos (ver figuras 22-27), siempre teniendo en cuenta que existe una diferencia y ésta se encuentra en el tipo de formulación. Como hemos dicho anteriormente, este tipo de granulado se elabora utilizando sustancias ácidas y carbonatos, por lo que para la formulación adicionaremos cantidades adecuadas de bicarbonato sódico y ácido tartárico, que son los que le proporcionarán al granulado el sabor ácido y la efervescencia, también es importante tener en cuenta que el aglutinante utilizado en este caso es el agua.

La tabla 1 muestra la composición cualitativa y cuantitativa para cada una de las formulaciones de granulados.

GRANULADO SACARURO		GRANULADO EFERVESCENTE	
Composición	Cantidad (g)	Composición	Cantidad (g)
Mezcla vegetales	26.2%	Mezcla vegetales	26.2%
Azúcar	73.8%	Azúcar	40.59%
Jarabe simple	c.s.p.	Ac. tartárico	9.41%
-	-	Bicarbonato sódico	20%
-	-	Agua	c.s.p.

**Tabla 1.** Composición cuantitativa y cualitativa en los granulados.

### 2.3. OBTENCIÓN DE PASTILLAS MASTICABLES

En la actualidad, la preocupación por desarrollar tanto nuevos vehículos como nuevas formas de dosificación de aplicación en pediatría es una constante en el ámbito de la tecnología farmacéutica.

Una de las ventajas en la administración de las pastillas de goma masticables es que son preparadas mediante moldeo, y por tanto, pueden adquirir diversas formas, sabores y aromas, por lo que esto puede facilitar la administración aquellos individuos con dificultades para deglutir (Amanda y Hinkle, 2004), ya que la gelatina permite una gran versatilidad y posee cualidades sensoriales positivas, además de una gran estabilidad.

Dentro de todos los tipos de pastillas que existen, en este trabajo nos centramos en la elaboración de pastillas masticables. Como hemos dicho anteriormente estas pastillas masticables, se fabrican por fusión de la base de goma, adición sucesiva de las demás sustancias y posterior moldeo de la mezcla para obtener el aspecto de la goma deseado.

Como componentes de la formulación y que serán la base de la estructura de la pastilla en cuestión se eligieron la gelatina y la pectina. La gelatina es uno de los biopolímeros más utilizados en la gelificación de alimentos (Parker y cols., 1994). Según la literatura existente, en el proceso de gelificación la adición de otro polímero de tipo polisacárido ha resultado influir en la rigidez, densidad de carga y solubilidad de la cadena polimérica (Lundin y cols., 2000). Dichos binomios polisacárido proteínas proporcionan multitud de propiedades funcionales en alimentos de confitería, productos lácteos y sustitutivos de grasa. En este sentido, el comportamiento de las mezclas gelatina y polisacáridos como dextrano, maltodextrina o carragenano fueron estudiadas (Norton y Frith, 2001; Michon y cols., 2002) aunque ninguna de esas mezclas dio lugar a resultados tan satisfactorios como los de la asociación gelatina-pectina (Susan y cols., 2003). En este caso se vio reducida la deformación a la fractura de los geles mejorando en todos los casos las propiedades mecánicas (Barrera y cols., 2002). Además recientes estudios demuestran que la adición de pectina a pastillas de goma a base de gelatina reduce la dificultad para ser masticadas, las hace más frágil y más suave. la pectina también incrementa el sabor afrutado y dulce estas (Demars and Ziegler, 2001). En base a estos hallazgos la fórmula seleccionada como vehículo de la mezcla de deshidratados vegetales fue la siguiente:

Para la elaboración se parte de la base de goma y de la fase azucarada por separado, se calientan a una temperatura de aproximadamente 50°, añadiendo poco a poco los distintos componentes y agitando continuamente con una varilla de vidrio.

Una vez espesa la base de goma, se vierte la base azucarada sobre ésta. Posteriormente se adiciona la mezcla de vegetales en la cantidad adecuada para la dosis diaria recomendada. Finalmente tras el enfriamiento se añaden tanto el saborizante y el colorante autorizados; la mezcla se vierte en los moldes (Figura 28) seleccionados y se deja enfriar.





**Figura 28.** Moldes pastillas masticables

Los excipientes de todas las formulaciones son aptos y considerados como seguros para el consumo en pediatría, así mismo las cantidades utilizadas de azúcar, componente en mayor cantidad, se encuentra entre el 10-18% de las cantidades diarias recomendadas.

**CONTROLES DE LAS FORMAS FARMACÉUTICAS**

La producción de estas formas farmacéuticas exige una evaluación continua de las materias primas, procesos, equipos, envasado y controles antes, durante y después de la preparación, con objeto de garantizar la calidad del producto final.

Los controles, que habitualmente se realizan sobre las muestras tomadas, son múltiples y de diferente naturaleza, incluyendo características físicas, químicas e indicadores de las propiedades biofarmacéuticas. En la tabla 2 se ven reflejados los ensayos llevados a cabo para evaluar la calidad de las diferentes formas farmacéuticas.

CARACTERÍSTICAS	PARÁMETROS
GEOMÉTRICAS. DESCRIPCIÓN FÍSICA	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Tamaño de partícula</li> <li>2. Estudio Morfológico</li> <li>3. Dimensiones</li> <li>4. Características organolépticas</li> </ol>
MECÁNICAS	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Resistencia a la fractura. Dureza</li> <li>2. Resistencia mecánica. Friabilidad</li> </ol>
REOLÓGICAS	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Volumen aparente</li> <li>2. Capacidad de flujo</li> </ol>
FISICO-QUÍMICAS	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Porosidad</li> <li>2. Grado de humedad</li> <li>3. pH</li> </ol>
INDICADORES BIOFARMACÉUTICOS	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Tiempo de disgregación</li> </ol>
POSOLÓGICAS	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Uniformidad de masa</li> </ol>
ESTABILIDAD	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Estudio microbiológico</li> <li>2. Estudio nutricional</li> </ol>

	3. Determinación capacidad antioxidante
--	---

**Tabla 2.** Controles de las formas farmacéuticas

Parte de los ensayos realizados para nuestras muestras son los descritos en la Real Farmacopea Española (RFE) para polvos de uso oral.

Cada uno de los datos obtenidos en estos análisis, son el resultado medio de la evaluación de tres muestras obtenidas de dos lotes diferentes a fin de observar las variaciones derivadas de la obtención.

**TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS**

Con el fin de observar la existencia de diferencias significativas entre las formulaciones estudiadas, en base a su composición, tiempo ensayado y temperatura de conservación se ha llevado a cabo un estudio estadístico basado en el análisis de la varianza (ANOVA) con la ayuda del software GraphPad Prism ® (GraphPad Software Inc, San Diego, CA, EE.UU. versión 3.0). Se ha realizado el cálculo de las varianzas intra e inter grupos. La comparación entre los resultados obtenidos para las muestras conservadas bajo las distintas condiciones de temperatura, envase, atmósfera de envasado y cantidad de muestra contenida se llevó a cabo a través del test de comparación múltiple Kruskal-Wallis, seguido de un test de Bonferroni. Las diferencias mínimas entre las medias se establecieron a través de intervalos LSD (diferencia significativa mínima) con un nivel de confianza del 95%. Del análisis estadístico de los resultados de cada parámetro a lo largo del tiempo se determina el valor de la función F - relación entre la varianza de los distintos tratamientos y la varianza dentro de cada tratamiento - y el valor de p - probabilidad de cometer error si se rechaza la igualdad de efectos y se decide que son diferentes. Los valores de  $p < 0,05$  fueron considerados como estadísticamente significativos.



# **RESULTADOS**



## ANÁLISIS GRANULOMÉTRICO

### **Introducción**

El objetivo básico del análisis granulométrico es la evaluación del tamaño, de la distribución de tamaños y de la forma de las partículas que constituyen un sólido pulverulento (Stanley- Wood, 1983).

Estas tres características granulométricas potencialmente, afectan al desarrollo de numerosas operaciones básicas y a las propiedades de las formas de dosificación a que dan lugar. El mezclado de sólidos es un buen ejemplo de operación básica cuyo desarrollo se encuentra altamente influenciado por el tamaño de partícula de los elementos constituyentes.

Entre el tamaño de partícula y la superficie específica de los sólidos existe una gran relación (Allen, 1997) que determina una serie de procesos superficiales, como la disolución, que transcurre a una velocidad que depende de la granulometría del sólido.

En el caso de algunas sustancias auxiliares, el tamaño de partícula condiciona su actuación (Washington, 1992). Así, los agentes lubricantes deben estar constituidos por partículas de pequeño tamaño para que actúen como tales.

Existen otras propiedades de los sólidos que se ven condicionadas, como su densidad aparente, que constituye una propiedad crítica en la elaboración de las formas de dosificación sólidas, como cápsulas o comprimidos, en la que intervienen procesos de llenado volumétrico.

La disolución, la reactividad química y la fluidez de una sustancia, así como la homogeneidad de la formulación que la contiene, dependen del tamaño, forma y morfología de la superficie de las partículas que constituyen dicha sustancia activa. Por ello, tiene gran interés en la fase de preformulación el análisis granulométrico, que proporciona información sobre el tamaño medio de las partículas, su homogeneidad y la forma de las mismas.

Las técnicas de análisis granulométrico habitualmente utilizadas son la microscopía óptica y la tamización analítica.



Con cierta frecuencia, los sólidos pulverulentos manejados en Tecnología Farmacéutica contienen una determinada proporción de partículas cuyo tamaño dificulta su utilización o cuya distribución de tamaños de partícula resulta excesivamente heterogénea (Sangnarka y Noomhorm, 2003). En estas situaciones se hace necesaria la aplicación de técnicas que permitan separar o clasificar las partículas que componen dichos sólidos en función de su tamaño.

La tamización es la técnica granulométrica más antigua, basada en la utilización de tamices que actúan como barreras mecánicas al paso de partículas de determinados tamaños. Podemos emplear dos tipos de tamices: los tamices convencionales y los tamices especiales.

### Equipo

El dispositivo utilizado es una torre de tamices (Figura 29) (RETSCH. AS 200 DIGIT. GERMANY), donde están apilados los tamices convencionales (RETSCH D-42759 HAAN/GERMANY), constituidos por hilos entrecruzados de acero. Para la caracterización de un tamiz es necesario definir tres parámetros, como son, la abertura de malla, la anchura de malla y el diámetro del hilo. La abertura de malla es la distancia existente entre dos hilos contiguos del tamiz mientras que la anchura es la distancia entre los centros de dos hilos contiguos o, lo que es lo mismo, es la suma de la abertura de malla y el diámetro del hilo. El entrecruzamiento de los hilos da lugar a la formación de orificios que presentan forma cuadrada.

Distintos organismos han propuesto colecciones de tamices con diferentes aberturas de malla que constituyen las llamadas “escalas de tamices”.



**Figura 29.** Torre de tamices

El método de tamización que hemos utilizado es la Tamización por vibración, en ésta la distribución de los tamices recibe el nombre de “en cascada”, se utiliza un conjunto de  $n$  tamices, en nuestro caso formado por 8 tamices de luz de malla de 710, 500, 355, 250, 180, 125, 90 y 63 micras dispuestos en orden decreciente de aberturas de malla y montados sobre una plataforma vibratoria. El dispositivo posee una tapadera que se coloca sobre el primer tamiz, es decir, sobre el de mayor luz de malla, para evitar pérdidas de muestra. También colocamos bajo el último tamiz, el de menor luz de malla, un fondo desprovisto de orificios cuya función es recoger el tamizado obtenido del último tamiz.

### **Procedimiento (RFE 2.9.12.)**

Colocamos sobre el primer tamiz de luz de malla, es decir del de 710 micras, 100 gramos de muestra, tapamos la torre de tamices con la tapadera y ajustamos la frecuencia y magnitud de las vibraciones y el resultado es una distribución incremental en peso de las partículas que constituyen el sólido pulverulento. A cada una de esas fracciones se le asigna, como diámetro equivalente, la media aritmética de las aberturas de malla de los tamices entre los que quedó retenida.

### **Resultados**

Cuando la finura de un polvo se determina por tamizado, se define en función del número o números del tamiz o de los tamices utilizado(s), bien utilizando la clasificación siguiente o bien, en el caso de que la misma no sea aplicable, expresando la finura del polvo en porcentaje ( $m/m$ ) que pasa a través del tamiz o tamices utilizado(s).

En la descripción de los polvos se emplean los términos:

- Polvo grueso. No menos del 95 por ciento en masa pasa a través de un tamiz del número 1400 y no más del 40 por ciento en masa pasa a través de un tamiz del número 355.

- Polvo moderadamente fino. No menos del 95 por ciento en masa pasa a través de un tamiz del número 355 y no más del 40 por ciento en masa pasa a través de un tamiz del número 180.
- Polvo fino. No menos del 95 por ciento en masa pasa a través de un tamiz del número 180 y no más del 40 por ciento en masa pasa a través de un tamiz del número 125.
- Polvo muy fino. No menos del 95 por ciento en masa pasa a través de un tamiz del número 125 y no más del 40 por ciento en masa pasa a través de un tamiz del número 90.

Luz de malla ( $\mu\text{m}$ )	Límite de diámetro	Rechazo (g)	Rechazo (%)	Rechazo acumulativo (%)	Tamizado acumulativo (%)
710 $\mu\text{m}$	710	R1 (g)	R1 (%)	R1 (%)	100-R1 (%)
500 $\mu\text{m}$	$(710+500)/2$	R2 (g)	R2 (%)	R1+R2 (%)	100- Ra2
355 $\mu\text{m}$	$(500+355)/2$	R3 (g)	R3 (%)	R1+R2+R3(%)	100-Ra3
250 $\mu\text{m}$	$(355+250)/2$	R4 (g)	R4 (%)	...	100-Ra4
180 $\mu\text{m}$	$(250+180)/2$	R5 (g)	R5 (%)	...	100-Ra5
125 $\mu\text{m}$	$(180+125)/2$	R6 (g)	R6 (%)	...	100-Ra6
90 $\mu\text{m}$	$(125+90)/2$	R7 (g)	R7 (%)	...	100-Ra7
63 $\mu\text{m}$	$(90+63)/2$	R8 (g)	R8 (%)	$\sum R$ (%)	100-Ra8
< 63 $\mu\text{m}$		T (g)	T (%)		

**Tabla 3.** Tabulación de los datos granulométricos.

Las figuras 30-38 corresponden a la representación gráfica de las curvas de frecuencia y las sumatorias ascendente y descendente.

Alcachofa polvo

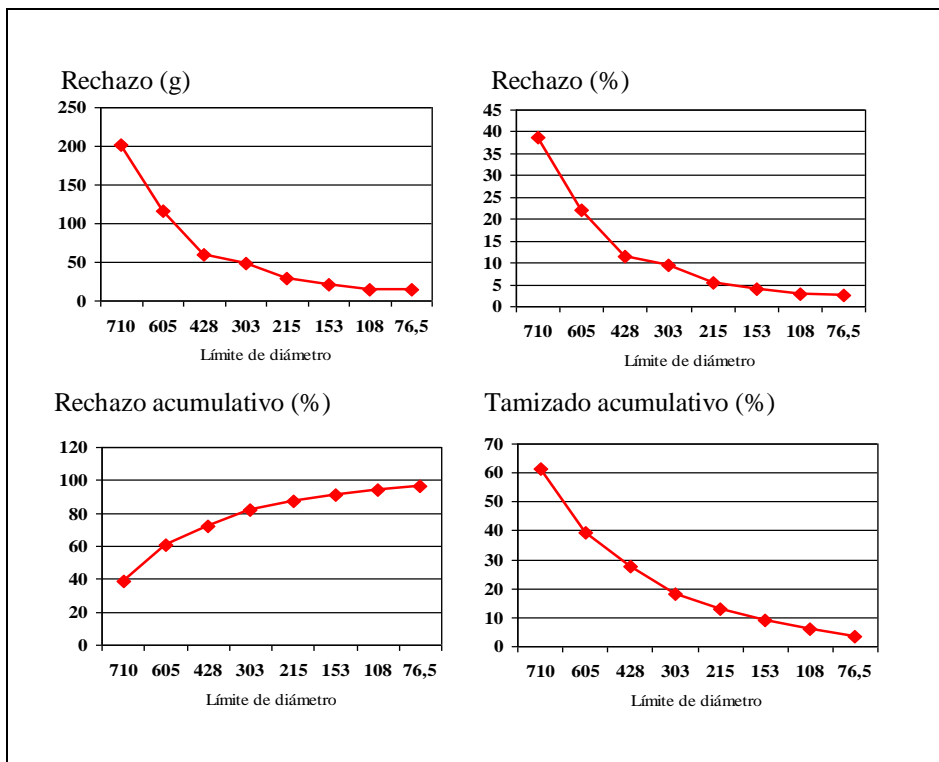


Figura 30. Distribución del tamaño de partícula en peso de la Alcachofa.

Borraja polvo

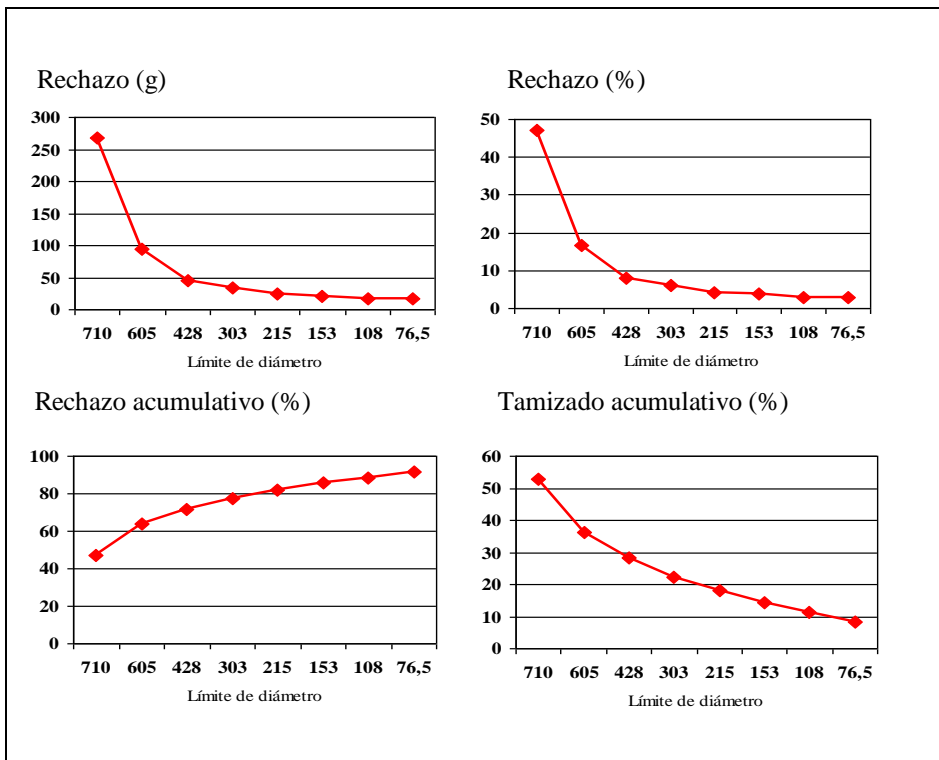


Figura 31. Distribución del tamaño de partícula en peso de la Borraja.

Col-Brócoli polvo

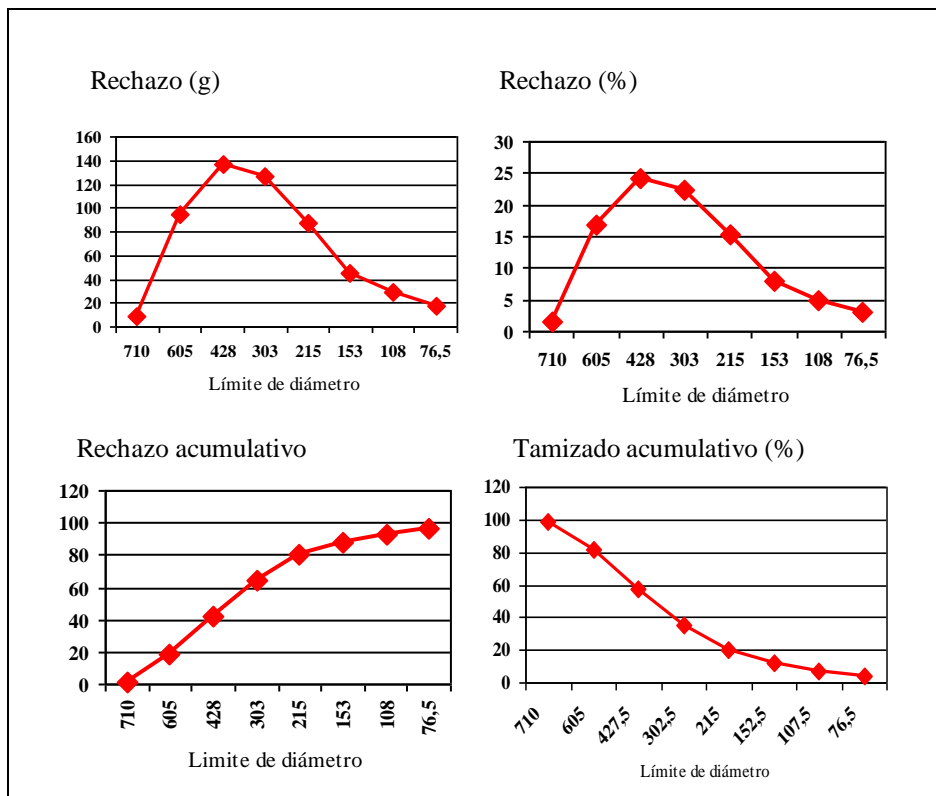
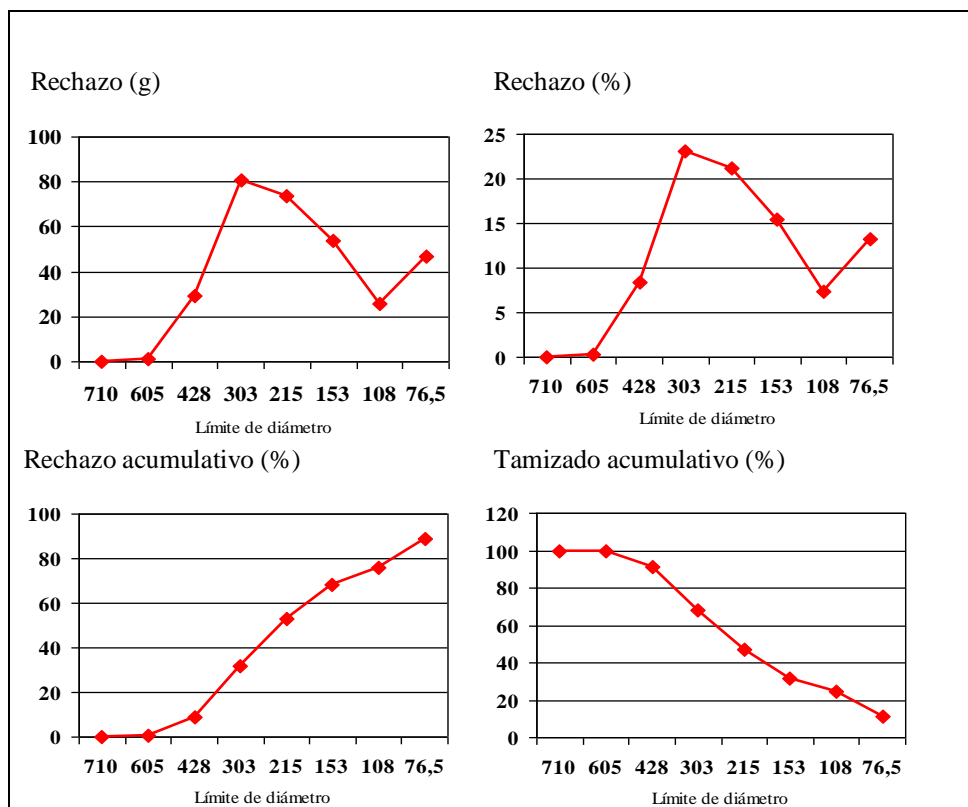


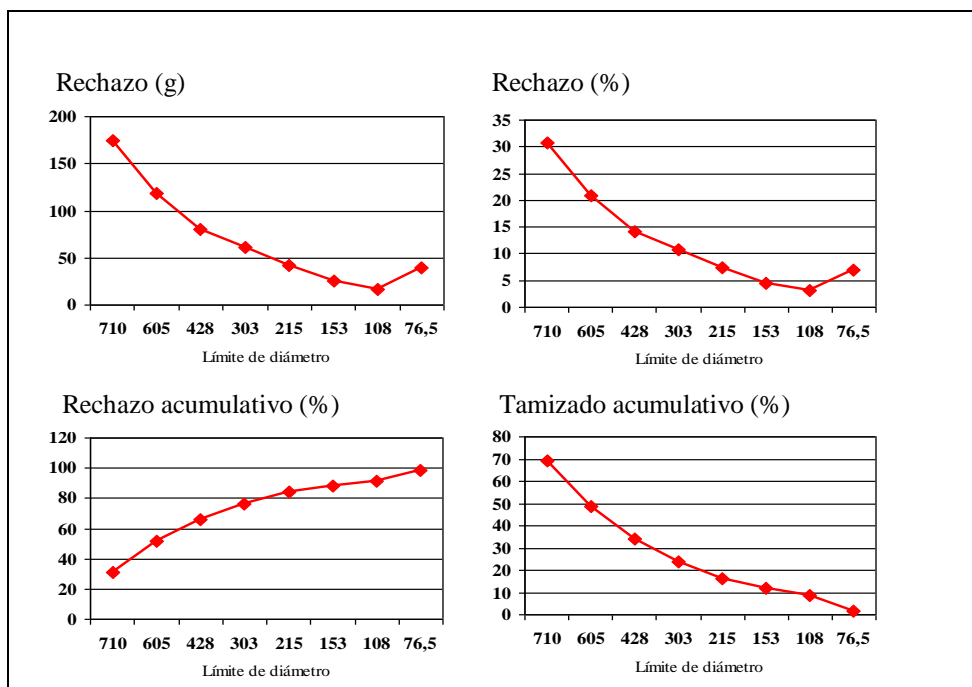
Figura 32. Distribución del tamaño de partícula en peso de la Col-Brócoli

Espárrago polvo



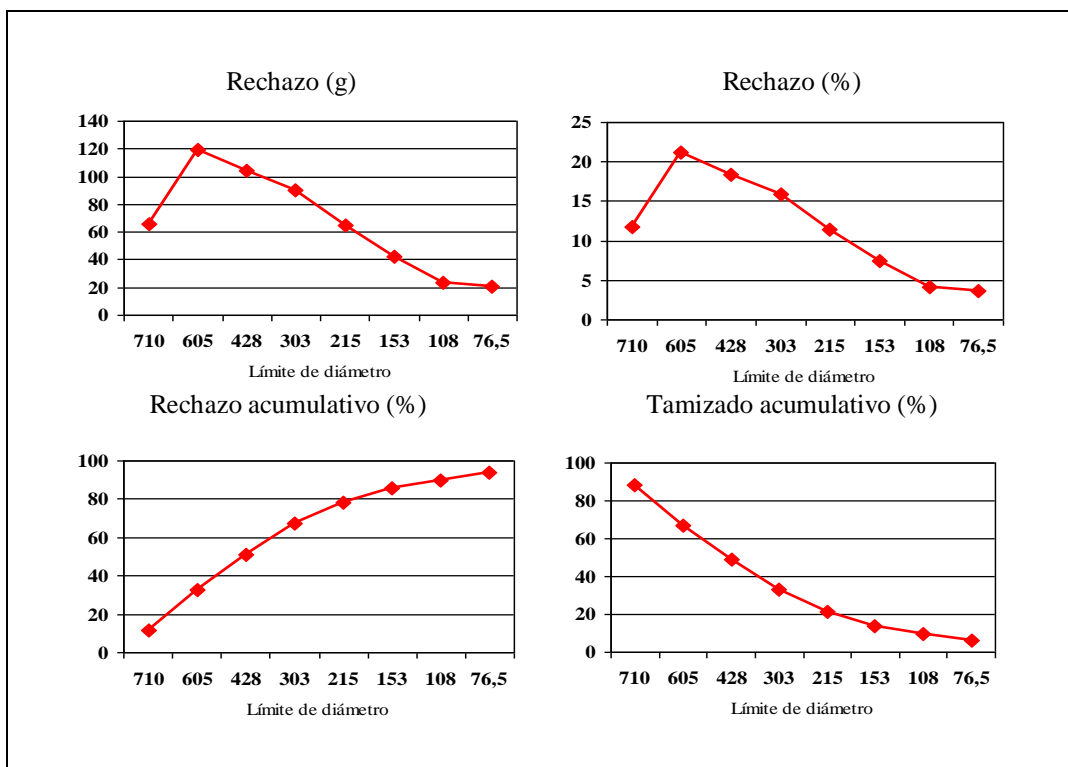
**Figura 33.** Distribución del tamaño de partícula en peso del Espárrago

Judía polvo



**Figura 34.** Distribución del tamaño de partícula en peso de la Judía

Limón polvo



**Figura 35.** Distribución del tamaño de partícula en peso del Limón.

Pimiento polvo

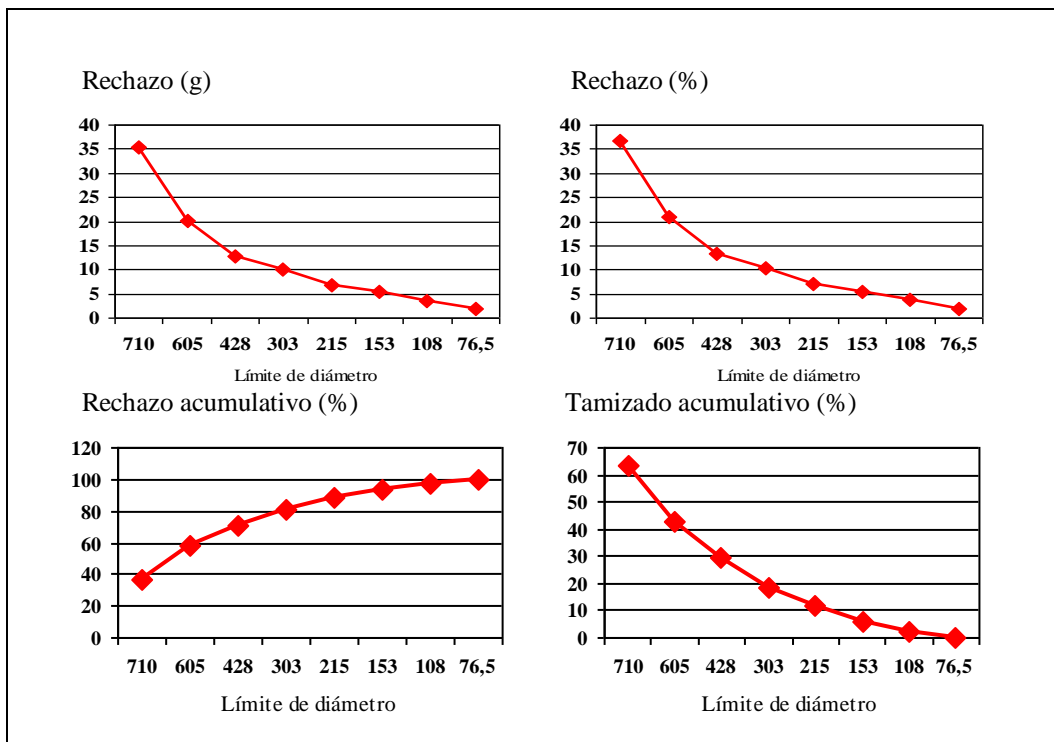


Figura 36. Distribución del tamaño de partícula en peso del Pimiento.

Tomate polvo

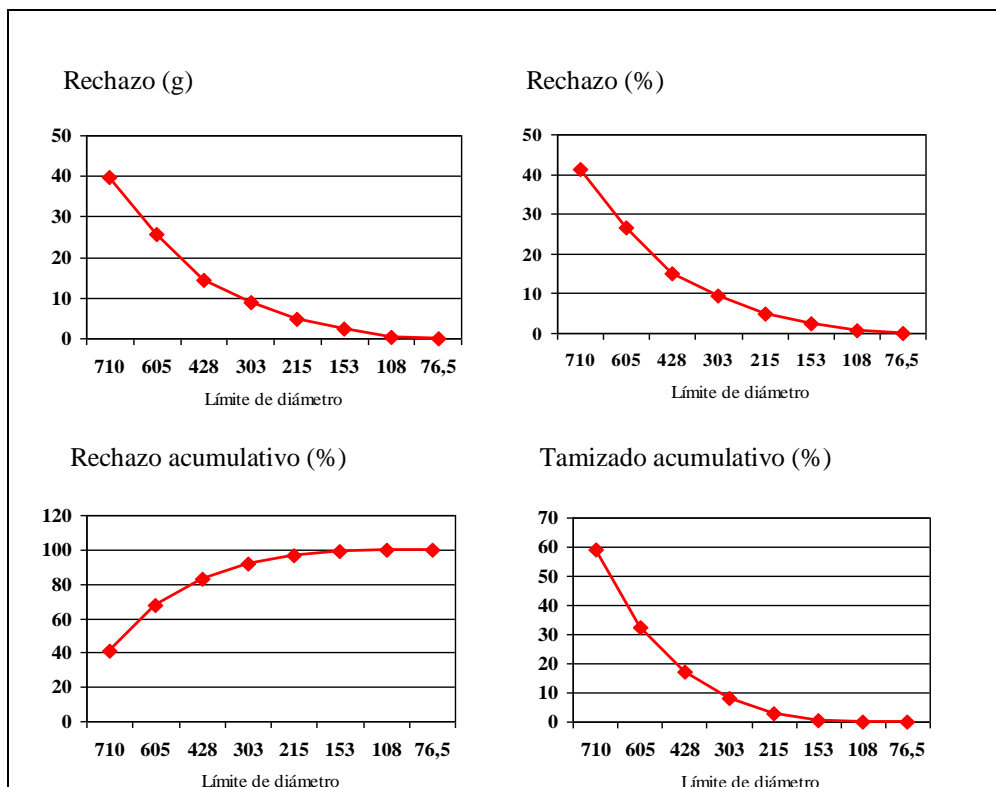


Figura 37. Distribución del tamaño de partícula en peso del Tomate.

Zanahoria polvo

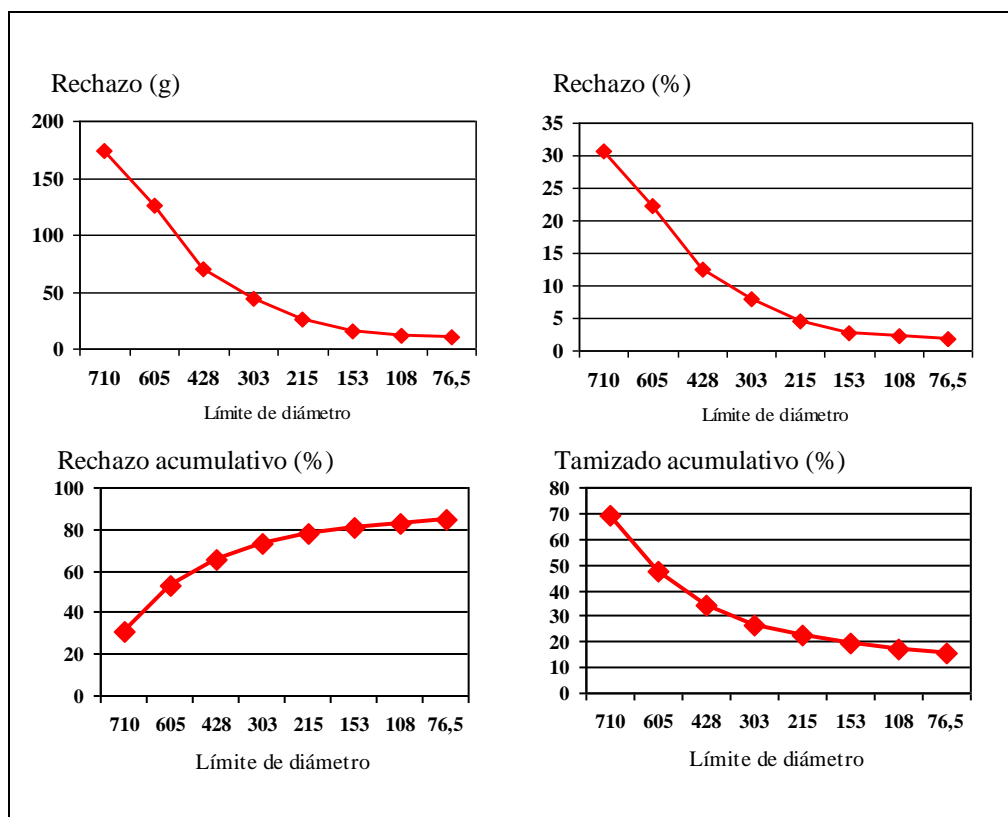


Figura 38. Distribución del tamaño de partícula en peso de la Zanahoria.

**Discusión.**

En la tabla 4 se muestran los datos de distribución de tamaño para cada uno de los vegetales objeto de estudio. En relación a las indicaciones definidas en la RFE para el ensayo de tamaño de partícula, podemos decir que la zanahoria, alcachofa, judía, pimiento, tomate y borraja presentan un tamaño de partícula grueso, siendo el limón, col-brócoli y espárrago aquellos que presentan cierto tamaño de partícula de grueso a moderadamente fino.



<b>Tamiz 355 micras</b>	<b>Rechazo (%)</b>	<b>Tamizado (%)</b>	<b>Tamaño de partícula</b>
<b>Alcachofa</b>	72.32 %	27.39 %	Grueso
<b>Borraja</b>	71.69 %	27.80 %	Grueso
<b>Col-Brócoli</b>	42.27 %	57.45 %	Grueso- Moderadamente fino
<b>Espárrago</b>	8.70 %	91.61 %	Grueso- Moderadamente fino
<b>Judía</b>	65.69 %	34.03 %	Grueso
<b>Limón</b>	51.12 %	48.16 %	Grueso- Moderadamente fino
<b>Pimiento</b>	68.3 %	28.05 %	Grueso
<b>Tomate</b>	79.61 %	16.64 %	Grueso
<b>Zanahoria</b>	65.48 %	20.25 %	Grueso

**Tabla 4.** Porcentajes en rechazo y tamizado de los distintos vegetales a su paso por el tamiz de luz de malla de 355 micras.

La evaluación del tamaño de partícula desempeña un papel crítico en el comportamiento de los sólidos pulverulentos, ya que, potencialmente, afecta al desarrollo de numerosas operaciones básicas y a las propiedades de las formas de dosificación a que dan lugar.

Pese a que uno de los vegetales, col-brócoli, presenta una distribución de tamaños próximo al modelo de distribución normal, el resto de los vegetales, favorecerá la estratificación del sólido pulverulento interfiriendo de este modo en la dosificación.

Junto a los problemas tecnológicos, evidentemente, el tamaño de partícula de los sólidos pulverulentos en la fase de preformulación debe adaptarse a la vía de administración a la que se van a destinar y por tanto, teniendo en cuenta que el tamaño obtenido, 355 micras aproximadamente, es excesivamente grande, este será muy apreciable para el paladar humano cuanto más para el de un niño. Estos son, junto con la tercera edad, uno de los sectores de población más problemáticos a la hora de administrar un medicamento, por lo que el tamaño de partícula de las muestras que forman parte de la forma de

presentación del producto ha de estar comprendida dentro de unos límites muy estrictos para que pueda ser administrado eficazmente sin ningún tipo de problema. De acuerdo con esto y teniendo en cuenta que el producto va destinado a niños, mezclado con otros alimentos, surgió la necesidad de reducir aún más ese tamaño hasta la obtención de un polvo menor a 63 micras que será el tamaño seleccionado para la formulación objeto de estudio y a partir de la cual realizaremos el resto de ensayos.

Conseguimos con este tamaño de polvo menor a 63 micras, que fuera inapreciable al paladar, pero uno de los inconvenientes encontrados fue que, al ser un tamaño tan pequeño, aumentaba significativamente la superficie específica de las partículas, aumentando por tanto la adhesión entre ellas y, como consecuencia, formando aglomerados de partículas que dificultarían otras propiedades, tales como la capacidad de flujo. Aun así, fue un tamaño de partícula apropiado, facilitándonos la elaboración de otras formas farmacéuticas buscadas, como es el caso de los granulados y de las pastillas masticables que veremos más adelante.

Los granulados obtenidos son más grandes, esféricos e isodiamétricos que las partículas de polvo de las que partimos, reduciéndose de esta manera las fuerzas de fricción, los efectos de carga eléctrica y mejorando significativamente la capacidad de flujo.

El tamaño de las partículas de los granulados obtenidos, tanto el sacaruro como el efervescente, puede determinarse por diferentes métodos, de los cuales utilizamos el de tamices (Figura 39), cuyo fin es el de obtener una fracción granulométrica más adecuada. Para ello, se utiliza un tamiz de luz de malla igual o normalmente inferior al utilizado en la granulación y otro tamiz más fino para recoger el polvo que se pueda haber generado en la granulación.



**Figura 39.** Tamiz

En nuestro caso, el tamaño de granulado obtenido fue de 2 mm, consiguiendo que fuera bastante homogéneo, facilitando así su dispersión y haciendo que ésta fuera lo más pequeña posible.

Gracias al tamaño de partícula obtenido y por tanto a la disminución de la superficie específica de las partículas, otra de las ventajas que nos encontramos es que reducimos la higroscopicidad de la mezcla ya que se absorbe menor cantidad de humedad, reteniéndola pero manteniendo una mejor capacidad de fluencia.

## **ESTUDIO MORFOLÓGICO**

La forma de las partículas puede condicionar muchas de las propiedades de los sólidos pulverulentos. De esta manera las propiedades de flujo son reflejo de la forma de las partículas que lo componen.

Para los polvos deshidratados se realizó un análisis cualitativo de la forma de las partículas empleando un microscopio óptico, en el caso de los granulados sacaruro y efervescente el análisis se realizó a simple vista ya que el tamaño de los gránulos así lo permitía, pudiéndose utilizar, en cualquier caso, el microscopio óptico sin ningún problema.

El examen microscópico de la materia prima constituye una etapa importante dentro de la fase de preformulación. Ésta técnica suministra información sobre la forma de las partículas: si son aciculares, laminares, de aspecto rugoso, cristalino o amorfo, etc, utilizando para ello un método directo que consiste en la observación microscópica de las partículas.

### **Equipo:**

El equipo utilizado para el análisis cualitativo de las partículas de polvo fue un microscopio (OLYMPUS OPTICAL BX 40 F4, Japón) (Figura 40) utilizando el aumento 20x/0.40, al cual se le acopla una cámara fotográfica tipo OLYMPUS SC35 TYPE 12, Japón.



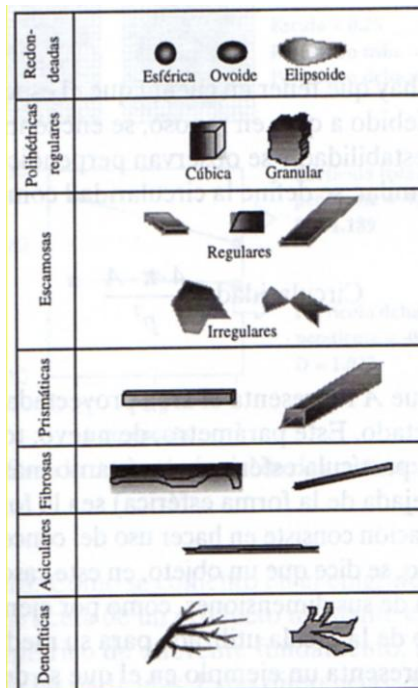
**Figura 40.** Microscópio óptico

### **Procedimiento:**

Se prepara una suspensión de las partículas en un líquido de índice de refracción adecuado y en el que sean insolubles, en el caso que nos ocupa, agua.

### Resultado y discusión

El estudio de la forma de las partículas es junto al tamaño y distribución de éste uno de los objetivos del análisis granulométrico.



**Figura 41.** Forma de las partículas

Podemos observar en la figura 41 un esquema de todas las formas de las partículas que nos podemos encontrar.

En la tabla 5 se presenta una descripción cualitativa de las partículas de polvo estudiadas, empleando una codificación de acuerdo a la frecuencia de partículas de distintas formas geométricas presentes en la muestra.

Referencias de la tabla 5: (+++) muchas partículas de la forma indicada, (++) pocas partículas, (+) escasas partículas, (\*) no aparece esta forma de partículas.

Muestras	Forma de las partículas					
	Poliédricas regulares		Redondeadas	Escamosas		Fibrosas
	Cúbica	Granular	Esféricas	Regulares	Irregulares	
Alcachofa	*	+++	*	*	*	+++
Borraja	*	+++	*	*	+	++
ColBrócoli	*	+++	*	*	*	+
Espárrago	*	+++	*	*	*	+++
Judía	*	+++	+	*	*	+
Limón	*	+++	*	*	+	+
Pimiento	*	+++	*	*	*	+
Tomate	*	+++	*	*	+	++
Zanahoria	*	+++	*	*	*	+
Mezcla	*	+++	*	*	+	++

**Tabla 5.** Descripción de la forma de las partículas de polvo.

Las propiedades reológicas de un sólido pulverulento son de gran importancia en Tecnología Farmacéutica pues condicionan la aplicación de numerosas operaciones básicas implicadas en la elaboración de distintas formas farmacéuticas. En este sentido en la mayoría de los procesos de elaboración de estas formas farmacéuticas se incluye una dosificación volumétrica del principio activo y sustancias auxiliares, por lo que sus propiedades reológicas pueden condicionar la calidad de la forma farmacéutica respecto a su uniformidad de peso y de contenido del o los principios activos.

Precisamente la calidad reológica de los polvos depende en gran medida de sus propiedades de flujo, entre otras. Dicho flujo se verá condicionado por la forma de las partículas. Básicamente la resistencia que presentan los sólidos pulverulentos a moverse se debe a fuerzas de cohesión de origen superficial por lo que su intensidad es proporcional a la superficie de contacto entre las partículas y para el estudio de esta última, se debería conocer la geometría de empaquetamiento de las mismas. Todo incremento en el grado de empaquetamiento lleva a un aumento en la cohesividad del material, en la medida en que supone una mayor superficie de contacto entre sus partículas.

El grado de empaquetamiento más sencillo de las partículas del sólido corresponde al sistema que está formado por partículas esféricas de igual tamaño. El empaquetamiento más suelto corresponde a la disposición cúbica de las partículas (cada partícula presente 6 puntos de contacto con las partículas vecinas) con un porcentaje de espacios vacíos del 48%. Por el contrario, el mayor grado de empaquetamiento corresponde al romboédrico en la que cada partícula presenta 12 puntos de contacto con su vecina y el volumen de espacios vacíos es del 26%.

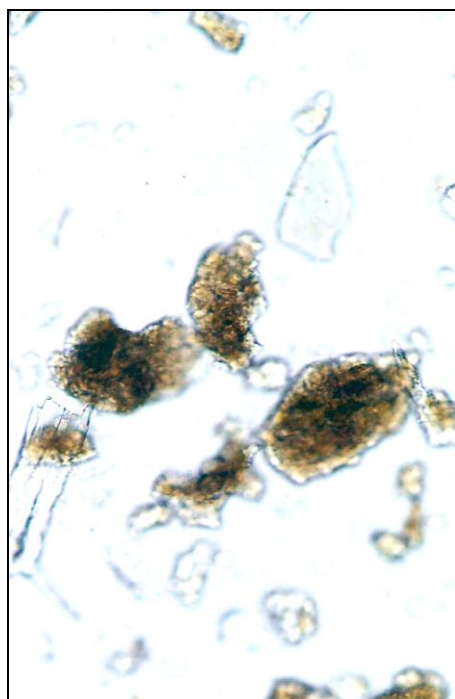
Sin embargo, los sólidos pulverulentos procedentes de nuestros deshidratados vegetales están constituidos básicamente por partículas de forma irregular y tamaños diversos, por lo que resulta un inconveniente el tipo de empaquetamiento adoptado por las partículas acudiendo a consideraciones geométricas.

En este sentido el estudio microfotográfico (figuras 42-51) para la forma de las partículas de deshidratados vegetales corrobora los resultados de flujo de la fórmula estudiada. Así nuestras partículas presentan una forma poliédrica regular granular en la mayoría de los casos, lo que hace que se vea favorecida la cohesión de las partículas y por tanto que haya una pobre fluidez del polvo.

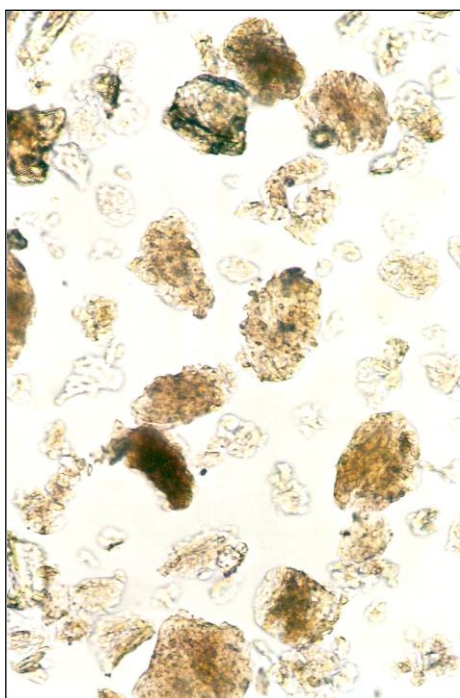
Por esta razón, a la hora de estudiar la reología de un sólido pulverulento, es necesario conocer las distintas posibilidades en las que se pueden encontrar empaquetadas sus partículas así como su superficie específica.



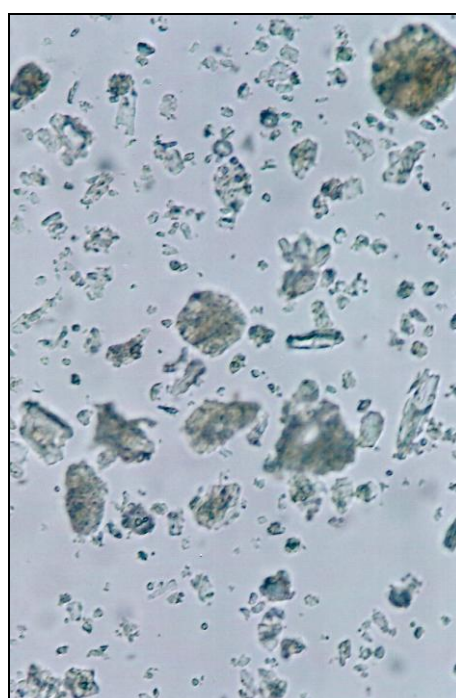
**Figura 42.** Partículas Alcachofa



**Figura 43.** Partículas Borraja



**Figura 44.** Partículas Pimiento

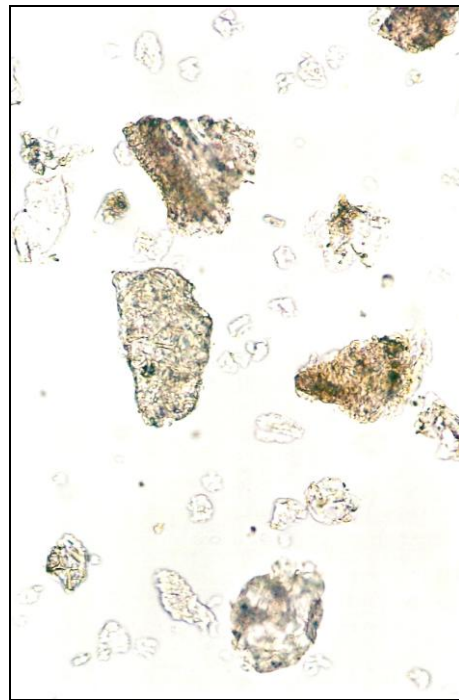


**Figura 45.** Partículas Judía

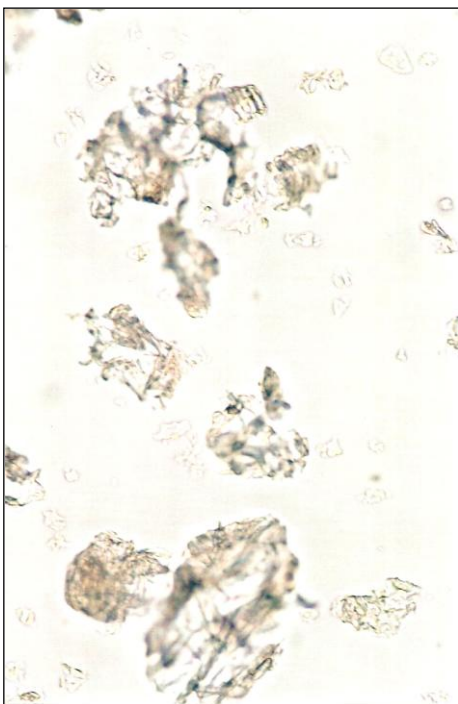




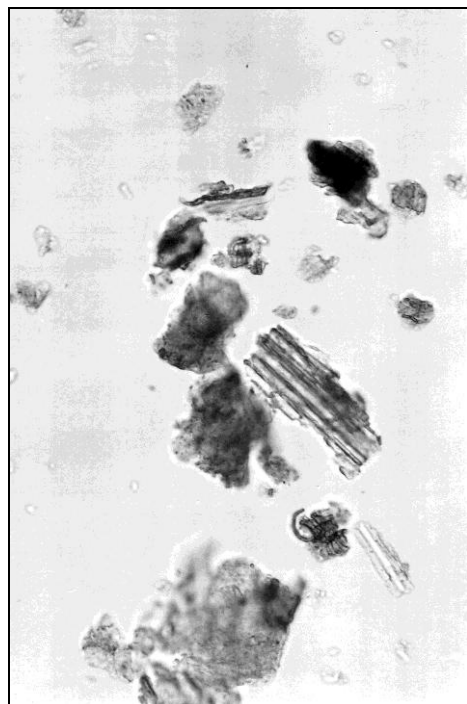
**Figura 46.** Partículas Tomate



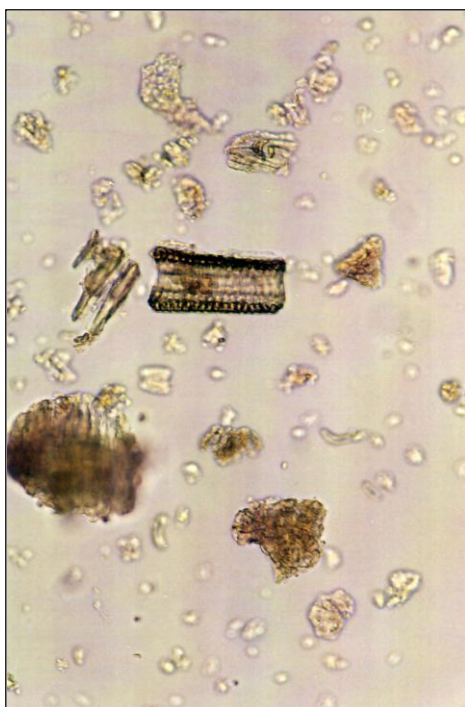
**Figura 47.** Partículas Limón



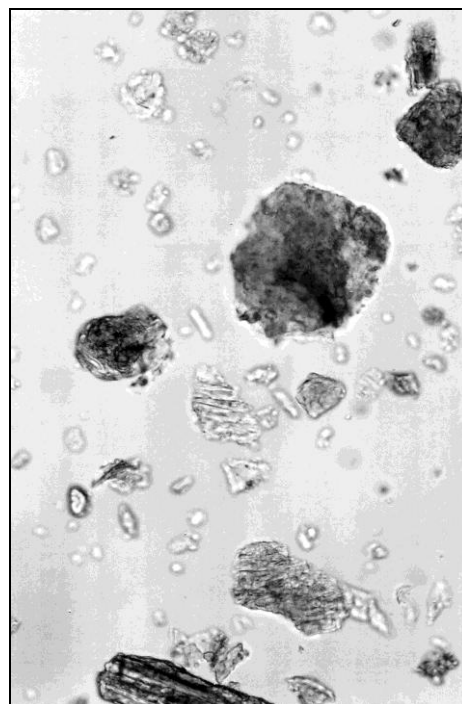
**Figura 48.** Partículas Zanahoria



**Figura 49.** Partículas Espárrago



**Figura 50.** Partículas Col-Brócoli



**Figura 51.** Partículas Mezcla de vegetales

Para evitar el predominio de una morfología irregular y con ello fenómenos de cohesión que se generan entre las partículas del polvo, y que acarrea, por tanto, una pobre fluidez del mismo, procedimos al desarrollo de nuevas formas de dosificación tales como, granulados efervescente y granulados sacaruros.

Una de las características esenciales de las partículas del granulado es su forma, en especial a la hora de la dosificación en monodosis o incluso cuando estos granulados están destinados a la elaboración de comprimidos, debido a su influencia sobre determinadas propiedades del granulado, particularmente a su capacidad de flujo.

Los granulados presentan una forma mucho más homogénea y regular que el polvo de partida, favoreciendo de esta manera muchas propiedades de la mezcla, entre otras la capacidad de flujo.



**Figura 52.** Granulado sacaruro



**Figura 53.** Granulado efervescente

Según se aprecia en las figuras 52 y 53, el granulado presentó una forma poliédrica regular granular alargada, así como una distribución homogénea del tamaño y forma, evitando la formación de conglomerados, y también la adhesión de las partículas con las paredes del dispositivo.

## **DIMENSIONES**

Cualquier tipo de comprimido, en nuestro caso pastillas masticables, para que se considere satisfactorio exige una evaluación continua. La determinación de las dimensiones nos informa sobre las características geométricas/físicas de las pastillas, las cuales hay que tener en cuenta a la hora de establecer los controles.

### **Equipo**

El aparato utilizado es el calibre, también denominado calibrador o pie de rey, es un calibrador digital POWERFIX, modelo Z22855, versión 06/2007. (Figura 54)



**Figura 54.** Pie de rey

Es un instrumento para medir dimensiones de objetos relativamente pequeños, desde centímetros hasta fracciones de milímetros ( $1/10$  de milímetro,  $1/20$  de milímetro,  $1/50$  de milímetro). Consta de una regla con una escuadra en un extremo, sobre la cual se desliza otra destinada a indicar la medida en una escala.

### **Procedimiento**

Para llevar a cabo la medida de las dimensiones de las pastillas masticables, colocamos al azar varias pastillas sobre una superficie plana y procedemos a la medida de las dimensiones, deslizamos una de las escuadras sobre la otra determinando así el largo, el ancho y el grosor de la pastilla. Debido a que la base de goma pudiera sufrir cambios conservada a distintas temperaturas, este mismo procedimiento se realizó a las pastillas transcurridos 90 días y tras ser conservadas a diferentes temperaturas.

**Resultado y discusión**

En la tabla 6 se representan las dimensiones obtenidas en la formulación de las pastillas masticables. Todas las pastillas masticables elaboradas y escogidas al azar para la determinación del ensayo, presentan las mismas dimensiones.

<b>Forma farmacéutica</b>	<b>Días</b>	<b>T<sup>a</sup></b>	<b>Ancho (mm)</b>	<b>Largo (mm)</b>	<b>Grosor (mm)</b>
<b>Pastillas masticables</b>	<b>0 días</b>	<b>25°</b>	27.50 ± 0.01	34.21 ± 0.01	14.50 ± 0.02
	<b>90 días</b>	<b>4°</b>	27.50 ± 0.02	34.21 ± 0.01	14.50 ± 0.02
		<b>25°</b>	27.50 ± 0.01	34.21 ± 0.01	14.50 ± 0.01
		<b>40°</b>	27.50 ± 0.01	34.21 ± 0.01	14.50 ± 0.01

**Tabla 6.** Dimensiones de las pastillas masticables

Comprobamos que, a lo largo del tiempo, y, soportando condiciones de temperatura de 4, 25 y 40°C, la base de goma permanece estable, no apreciándose modificación alguna, presentando valores similares en cuanto al ancho, largo y grosor se refiere.

## CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

### **Introducción**

El examen de una materia prima problema comienza con la observación y valoración de las características organolépticas: aspecto, color, olor y sabor. Este análisis preliminar no tiene un valor definitivo pero si orientativo (Nyambaka y Ryley, 2004).

Uno de los objetivos de la formulación es elaborar preparaciones eficaces, y sobre esta propiedad es donde se encuentra la observación por parte del paciente. En diversas formas farmacéuticas destinadas a la vía oral, el color, sabor y olor pueden ser determinantes para su administración y pueden ejercer un efecto psicológico importante sobre el paciente, potenciando o no el éxito del uso del preparado.

Este aspecto no sólo se aplica en pediatría y en personas de avanzada edad, sino también en adultos de mediana edad. Realmente, siempre hay que tener en cuenta que la aceptación de un sabor depende de la edad del paciente. Generalmente, los niños prefieren los sabores dulces afrutados; los adultos, gustos más ácidos, mientras que los ancianos encuentran más agradables los sabores mentolados.

Por otro lado, los procesos de deshidratación van acompañados de múltiples cambios, incluyendo reacciones químicas, cambios físicos y cambios estructurales que afectan tanto a las cualidades nutricionales como sensoriales. La deshidratación de alimentos generalmente implica una serie de operaciones como calentamiento, pasteurización, pre-concentración y secado, todo lo cual contribuye a la calidad global del producto final. Para las verduras los procesos de deshidratación afectan, en mayor o menor grado, atributos de calidad como el color, textura y valor nutricional. La pérdida nutricional o de los atributos sensoriales depende tanto del tipo de proceso de deshidratación como de la sensibilidad de los componentes específicos del alimento (Okos y cols., 1992).

Por tanto el objetivo de este ensayo fue evaluar las propiedades organolépticas de los deshidratados vegetales a lo largo del periodo de estudio y bajo la influencia de diferentes temperaturas.

Se utilizó el análisis sensorial de Wald (Amerine y cols., 1965), el cual permite mediante pruebas sucesivas rechazar a un panelista, aceptarlo o continuar evaluándolo hasta que sea aceptado o rechazado.

La selección del panel se realizó mediante pruebas de sensibilidad (vista, olfato y gusto) para conocer la capacidad discriminativa de cada panelista. Se les presenta a los candidatos una gama de colores para el ordenamiento e identificación, varias muestras de olores diferentes y los cuatro sabores básicos (dulce, salado, amargo y ácido).

Las cualidades sensoriales de los deshidratados se determinaron utilizando un panel entrenado. El propósito del entrenamiento fue familiarizar al panelista con el producto y sus características sensoriales y así desarrollar un lenguaje común que permita describir las características y mejorar la capacidad del voluntario para hacer un juicio coherente.

La fase de entrenamiento se basó en “La prueba de triángulo”. A cada panelista se le entregaron tres muestras, una de las muestras era diferente de las otras dos. Todas las muestras estaban codificadas con números aleatorios de tres dígitos. Los panelistas tenían que identificar si existía diferencia sensorialmente perceptible entre dos muestras. La prueba se realizó por triplicado. Las observaciones fueron analizadas por un análisis de varianza ANOVA.

También se elaboró un test con términos descriptivos a partir de los comentarios y observaciones de los panelistas durante la prueba de triángulo así como de una segunda prueba que consistió en la descripción individualizada de cada deshidratado vegetal y forma de dosificación.

Las pruebas sensoriales orientadas al estudio de estabilidad del producto final consistieron en la entrega a cada panelista de cuatro muestras. Una de las muestras era la mezcla de deshidratados a tiempo 0 y las otras tres a tiempo 90 almacenadas a 25, 4 y 40 °C. Se les solicitó que las compararan con las muestras a tiempo 0 (es decir muestras de referencia), indicando en su respuesta una escala del 1 al 10 la intensidad de los atributos a evaluar.

### **Resultado y discusión**

El color, olor y sabor son los atributos más importantes de los alimentos deshidratados y por tanto estos fueron los atributos evaluados por los panelistas (Mielgaard y cols., 2006; Mulando y Resurreccion, 2006).

Tres sesiones fueron necesarias para cualificar a los participantes sobre el modo de calificar y comunicar las percepciones del ensayo de cata con el fin de incrementar la homogeneidad de la respuesta.

De 20 voluntarios y tras la prueba triangular fueron 9 los panelistas seleccionados para el ensayo.

Desde la formación inicial a la prueba triangulo, los atributos sensoriales que indican la diferencia entre las muestras a día 0 y el resto del tiempo y temperaturas se incluyen en el test de degustación (Figura 55).

Algunas cualidades, sin embargo, no se describen fácilmente y simplemente se identifican como “característica”.

En las tablas 7 y 8, se recogen las apreciaciones iniciales, más frecuentes, en cuanto a la descripción individualizada de los deshidratados o formas de dosificación y que también sirvieron como entrenamiento de los panelistas.

<b>Muestras</b>	<b>Color</b>	<b>Olor</b>	<b>Sabor</b>
Alcachofa	Arena pálida	Especiado	Amargo
Borraja	Verde pardo	Especiado	Amargo
Col-Brócoli	Tierra pálida	Col-Brócoli	Ligeramente ácido
Espárrago	Tierra	Especiado	Ligeramente ácido
Judía	Arena	Especiado	Suave
Limón	Arena pálida	Limón	Cítrico
Pimiento	Tierra pálida	Pimiento	Amargo
Tomate	Tierra-rojizo	Tomate	Dulzaino y picante
Zanahoria	Arena pálida	Aromático	Dulce

**Tabla 7.** Descripción de las características organolépticas del polvo.





Fibrosa <input type="checkbox"/>	No fibrosa <input type="checkbox"/>
8. Aceptabilidad total:	
Me gusta <input type="checkbox"/>	No me gusta <input type="checkbox"/>

**Figura 55.** Test de evaluación sensorial

La figura 56 recoge el test utilizado para determinar la evolución de las características organolépticas de las formulaciones en función del tiempo y temperatura de conservación.

NOMBRE:	FECHA:
MUESTRA:	
<p>Respondan a las preguntas que a continuación se exponen siguiendo una escala de aceptabilidad del 1 al 3, tomando como 1 el valor más bajo, 2 el valor medio y 3 como el más alto en intensidad.</p>	
1. Apariencia:	
- Color:	1 <input type="checkbox"/> 1,5 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 2,5 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/>
- Estructura superficial:	1 <input type="checkbox"/> 1,5 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 2,5 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/>
2. Aroma:	1 <input type="checkbox"/> 1,5 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 2,5 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/>
3. Textura:	1 <input type="checkbox"/> 1,5 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 2,5 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/>
4. Sabor:	1 <input type="checkbox"/> 1,5 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 2,5 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/>
5. Tacto:	1 <input type="checkbox"/> 1,5 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 2,5 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/>
6. Fibrosidad:	1 <input type="checkbox"/> 1,5 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 2,5 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/>
7. Aceptabilidad total:	1 <input type="checkbox"/> 1,5 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 2,5 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/>

**Figura 56.** Test de evaluación sensorial

En la tabla 9, se observan las calificaciones realizadas por los panelistas en el ensayo.

Muestras	Parámetros	Media $\pm$ DS			
		Temperatura °C			
		25	4	25	40
		Día 0	Día 90		
Mezcla de polvos	Color	2.11 $\pm$ 0.2	2.17 $\pm$ 0.2	2.05 $\pm$ 0.1	2.22 $\pm$ 0.2
	Olor	2.28 $\pm$ 0.2	2.16 $\pm$ 0.2	2.27 $\pm$ 0.2	2.33 $\pm$ 0.2
	Sabor	1.95 $\pm$ 0.3	2.00 $\pm$ 0.2	2.05 $\pm$ 0.3	1.66 $\pm$ 0.2
	Aceptación	1.33 $\pm$ 0.2	1.39 $\pm$ 0.2	1.28 $\pm$ 0.2	1.05 $\pm$ 0.1
Granulado efervescente	Color	1.05 $\pm$ 0.1	1.66 $\pm$ 0.2	1.11 $\pm$ 0.2	1.00 $\pm$ 0.0
	Olor	1.72 $\pm$ 0.2	1.95 $\pm$ 0.2	2.11 $\pm$ 0.2	2.05 $\pm$ 0.3
	Sabor	1.61 $\pm$ 0.2	2.00 $\pm$ 0.2	2.05 $\pm$ 0.1	2.55 $\pm$ 0.3
	Aceptación	2.00 $\pm$ 0.2	2.16 $\pm$ 0.2	2.05 $\pm$ 0.1	2.33 $\pm$ 0.2
Granulado sacaruro	Color	1.16 $\pm$ 0.2	1.33 $\pm$ 0.2	1.11 $\pm$ 0.2	1.39 $\pm$ 0.2
	Olor	1.83 $\pm$ 0.2	2.00 $\pm$ 0.1	2.11 $\pm$ 0.1	2.16 $\pm$ 0.2
	Sabor	1.05 $\pm$ 0.1	1.05 $\pm$ 0.1	1.16 $\pm$ 0.2	1.28 $\pm$ 0.2
	Aceptación	3.00 $\pm$ 0.0	3.00 $\pm$ 0.0	3.00 $\pm$ 0.0	2.88 $\pm$ 0.2
Pastillas masticables	Color	3.00 $\pm$ 0.0	2.95 $\pm$ 0.1	3.00 $\pm$ 0.0	3.00 $\pm$ 0.0
	Olor	2.28 $\pm$ 0.2	2.05 $\pm$ 0.2	2.11 $\pm$ 0.1	1.66 $\pm$ 0.2
	Sabor	1.95 $\pm$ 0.2	1.66 $\pm$ 0.1	1.95 $\pm$ 0.2	1.00 $\pm$ 0.1
	Aceptación	3.00 $\pm$ 0.0	3.00 $\pm$ 0.0	3.00 $\pm$ 0.0	3.00 $\pm$ 0.0

**Tabla 9.** Puntuaciones a los atributos sensoriales de las diferentes formas de dosificación en función del tiempo y la temperatura.

Es bien sabido que el color de los frutos y vegetales frescos o recién procesados sufre diversos cambios no deseados durante el almacenamiento, que son muy perjudiciales para la calidad del alimento y, por lo tanto, para su aceptabilidad; estos cambios se producen de forma más acentuada a temperatura y humedad relativa elevadas. Los cambios de color se producen como consecuencia de reacciones en las que desaparecen los compuestos responsables del color natural y/o aparecen productos coloreados. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a esta cualidad se refiere en el transcurso del tiempo o bajo la influencia de la temperatura.

Tampoco se apreciaron cambios para el resto de propiedades en función del tiempo o de la temperatura en las formulaciones estudiadas. Las puntuaciones medias fueron analizadas mostrando únicamente diferencias significativas en las apreciaciones sobre el sabor entre el día 0 y 90 de la mezcla en polvo.

Las características organolépticas de los vegetales, de los alimentos y productos derivados de fuentes vegetales se encuentran íntimamente ligadas a la presencia en ellos de los llamados compuestos fenólicos. Estos compuestos fenólicos, según vimos en el capítulo de capacidad antioxidante, poseen un fuerte impacto sobre las características organolépticas de frutas y vegetales, estando relacionados con sus cualidades

sensoriales, ya sean frescos o procesados (Clifford, 1992); de forma que pueden contribuir al amargor, astringencia, color, olor y estabilidad oxidativa del alimento. (Puupponen-Pimiä y cols., 2001). Los datos obtenidos en cuanto a la cantidad de compuestos fenólicos presentes en la mezcla de vegetales que podemos ver en el capítulo de capacidad antioxidante, sufrieron modificaciones estadísticamente significativas tras 3 meses desde su obtención a 40 °C.

No obstante y dada la discrepancia observada para esta cualidad, la mezcla de deshidratados vegetales se incluye en otras formas farmacéuticas, como pastillas de goma y granulados, uno sacaruro y otro efervescente, todos ellos ricos en excipientes tales como edulcorantes, saborizantes y aromatizantes que enmascaran el sabor desagradable de los polvos iniciales. Nuevamente se observan diferencias cuando se comparan granulados efervescentes y polvos con las fórmulas más azucaradas.

En la tabla 8 podemos observar las distintas formas farmacéuticas elaboradas y la descripción de sus caracteres organolépticos. En este caso al comparar las puntuaciones medias para cada uno de los atributos de nuevo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la cata del granulado efervescente entre el día 0 y 90 de las muestras conservadas a 40 °C, aunque el resto de formas fueron aceptables al paladar, cumpliendo satisfactoriamente las exigencias de los participantes. Las diferencias en este caso bien podrían depender del gusto y preferencias de los participantes ya que para estos datos no hubo correspondencia en cuanto al incremento de la capacidad antioxidante, se refiere.

Las muestras mejor aceptadas fueron granulado sacaruro y pastillas de goma.



## **RESISTENCIA A LA FRACTURA. DUREZA**

Para determinar la dureza de las pastillas masticables utilizamos el método de Resistencia de los comprimidos a la rotura descrito en la RFE (2.9.8.), el cual tiene como finalidad la determinación, en condiciones definidas, de la resistencia a la rotura de los comprimidos, medida como la fuerza necesaria para provocar su rotura por aplastamiento.

### **Equipo**

El dispositivo utilizado es un Durómetro Tipo ERWEKA TBH 20 (Figura 57), que consta de una mordaza con dos mandíbulas enfrentadas que se desplazan una hacia la otra. La superficie de aplastamiento de las mandíbulas es plana y más grande que la zona de contacto con el comprimido. El aparato se calibra con ayuda de un sistema cuya precisión es de 1 newton.



**Figura 57.** Durómetro

### **Procedimiento**

Situamos la pastilla masticable entre las mandíbulas del dispositivo teniendo en cuenta, si es preciso, su forma; para cada determinación, orientar la pastilla del mismo modo con respecto a la dirección de aplicación de la fuerza. Efectuar la medida sobre 10 pastillas tomadas al azar, cuidando de eliminar cualquier fragmento que se haya podido quedar en el dispositivo antes de cada determinación.

**Resultados**

La estructura de las pastillas masticables se puede ver deteriorada debido a tensiones mecánicas producidas durante el transporte, acondicionamiento, embalado y manipulación por parte del paciente.

Por ello es por lo que realizamos una serie de ensayos, entre ellos, el de resistencia a la fractura, para poder determinar si son resistentes o no. En este caso hemos usado el método de resistencia a la fractura descrito en la RFE para comprimidos (2.9.8.), con la diferencia de que nuestros comprimidos son pastillas masticables y éstos al estar formados por una base de goma nunca van a romperse en fragmentos como tal, si no que sufrirán una deformación. Al aplicar la fuerza sobre ellos, son aplastados hasta llegar a la deformación total, tomando esta fuerza como la fuerza necesaria para la ruptura de la pastilla masticable.

En la tabla 10 vemos la relación de fuerzas que han sido necesarias para deformar 10 pastillas tomadas al azar, y observamos que prácticamente se ha necesitado la misma, tomando como fuerza media 488.5 N (Newton)

<b>Forma farmacéutica</b>	<b>Dureza (N)</b>
Gominola 1	488
Gominola 2	488
Gominola 3	489
Gominola 4	489
Gominola 5	488
Gominola 6	488
Gominola 7	490
Gominola 8	488
Gominola 9	488
Gominola 10	489
<b>Dureza min</b>	<b>488</b>
<b>Dureza max</b>	<b>490</b>
<b>Dureza media</b>	<b>488.5</b>

**Tabla 10.** Dureza de las gominolas

La determinación de la dureza, así como las dimensiones y la friabilidad de las pastillas masticables, y de todos los comprimidos en general, evalúan las características físicas de estas formas farmacéuticas, de modo que estas deben ser adecuadas para permitir su posterior manipulación durante la manipulación a nivel industrial y la utilización por parte del paciente.





## **RESISTENCIA MECÁNICA. FRIABILIDAD**

### **Introducción**

Según la RFE este ensayo tiene como objetivo la determinación, en condiciones definidas, de la friabilidad de los comprimidos y granulados no recubiertos, es decir, el fenómeno por el cual la superficie de los comprimidos o granulados se ve dañada y/o presenta señales de abrasión o de ruptura bajo el efecto de choques mecánicos o del roce.

### **Equipo**

En este ensayo se utiliza un friabilómetro de Roche del tipo ERWEKA G. m. b. H. (Alemania) (Figura 58)



**Figura 58.** Friabilómetro

Está provisto de un tambor con un diámetro interno comprendido entre 283 mm y 291 mm y con una profundidad comprendida entre 36 mm y 40 mm, hecho de un polímero sintético transparente con las superficies internas pulidas y que no produzcan electricidad estática. Una de las caras del tambor puede ser retirada. La muestra cae en cada giro del tambor debido a la presencia de una proyección curvada con un radio interno comprendido entre 75,5 mm y 85,5 mm que va desde el centro del tambor a la pared exterior. El tambor está unido al eje horizontal de un dispositivo que gira a  $25 \pm 1$  vueltas por minuto. De esta manera, en cada vuelta la muestra rueda o se desliza y cae sobre la pared del tambor o sobre ella misma.

**Procedimiento**

Para muestras unidosis con un peso superior a 0,65 g cada una, tomar 10 muestras. Situar la muestra unidosis del granulado sobre un tamiz con una luz de malla inferior al tamaño del granulado y eliminar el polvo libre por medio de aire a presión o con una brocha suave. Pesar exactamente la muestra unidosis del granulado y situarla en el tambor. Efectuar 100 rotaciones del tambor y sacarla. Eliminar el polvo libre que ha quedado como se ha indicado anteriormente. Pesar de nuevo la muestra del granulado con una aproximación de 1 miligramo. Repetimos la operación con las diez muestras cogidas al azar.

La friabilidad se expresa como la pérdida de masa y se calcula como porcentaje de la masa inicial.

**Resultados**

Durante su manipulación, envasado o transporte, el granulado podría experimentar continuos movimientos, los cuales pueden provocar un desgaste de la superficie, eliminándose partículas pequeñas. Por ello, es importante evaluar la resistencia de los granulados a la abrasión mediante este ensayo.

Los resultados descritos en la tabla 11 son los correspondientes a la resistencia mecánica que ofrecen los granulados sacaruro y efervescente en este ensayo. Como podemos observar, en ambas tablas se exponen los pesos iniciales de los que partimos con cada muestra y los pesos finales obtenidos tras someterlas a 100 rotaciones continuas en el dispositivo.

GRANULADO SACARURO		GRANULADO EFERVESCENTE	
$P_i$ (g)	$P_f$ (g)	$P_i$ (g)	$P_f$ (g)
$P_i$ 1: 10g	$P_f$ 1: 10.00 g	$P_i$ 1: 10g	$P_f$ 1: 9.99 g
$P_i$ 2: 10g	$P_f$ 2: 10.00 g	$P_i$ 2: 10g	$P_f$ 2: 9.99 g
$P_i$ 3: 10g	$P_f$ 3: 9.98 g	$P_i$ 3: 10g	$P_f$ 3: 9.98 g
$P_i$ 4: 10g	$P_f$ 4: 10.00 g	$P_i$ 4: 10g	$P_f$ 4: 9.99 g
$P_i$ 5: 10g	$P_f$ 5: 9.99 g	$P_i$ 5: 10g	$P_f$ 5: 10.00 g
$P_i$ 6: 10g	$P_f$ 6: 9.99 g	$P_i$ 6: 10g	$P_f$ 6: 9.98 g
$P_i$ 7: 10g	$P_f$ 7: 10.00 g	$P_i$ 7: 10g	$P_f$ 7: 10.00 g
$P_i$ 8: 10g	$P_f$ 8: 10.00 g	$P_i$ 8: 10g	$P_f$ 8: 10.00 g
$P_i$ 9: 10g	$P_f$ 9: 10.00 g	$P_i$ 9: 10g	$P_f$ 9: 9.99 g
$P_i$ 10: 10g	$P_f$ 10: 9.98 g	$P_i$ 10: 10g	$P_f$ 10: 9.98 g

**Tabla 11.** Datos de Friabilidad de los granulados sacaruro y efervescente

A partir de estos datos podemos determinar que la pérdida que sufren cada una de las muestras del granulado durante todo el ensayo expresado en porcentaje ha sido inferior o igual al 0.1 % de la masa total.

Concretamente se obtuvieron pérdidas de 0.06 % y 0.1 %, para el granulado sacaruro y efervescente, respectivamente.

Según describe la RFE, la pérdida de masa máxima que se considera aceptable para la mayor parte de los productos es del 1% y por tanto ambos granulados, sacaruro y efervescente, cumplen el ensayo de resistencia mecánica o friabilidad de manera óptima.



## **VOLUMEN APARENTE**

### **Introducción.**

El ensayo de volumen aparente tiene como objetivo determinar, bajo condiciones definidas, los volúmenes aparentes antes y después de sedimentar, la capacidad de sedimentación y las densidades aparentes de sólidos divididos (por ejemplo, polvos, granulados).

Definimos la densidad aparente de un granulado como la relación que existe entre una cantidad determinada del mismo y el volumen aparente que ocupa dicha cantidad. Éste volumen viene determinado, fundamentalmente por el tamaño, forma y textura de las partículas, los gases que las rodean y la presencia de cargas electrostáticas. Debemos tener en cuenta que, con el tiempo, y debido a las continuas vibraciones a las que se ve sometido durante el procesado y transporte, el volumen puede verse modificado, es por ello por lo que realizamos éste ensayo, con el objetivo de garantizar las propiedades de flujo y con ellas una correcta dosificación. De hecho en determinadas ocasiones no podrá realizarse la distribución de forma individualizada sino en cucharillas o medidas. Las “cucharillas” o “medidas” para la distribución de polvos sólo podrán utilizarse en el caso de medicamentos en cuya dosificación sea admisible un amplio margen de error. Dado que en estos casos la dosificación depende del volumen, las posibles fluctuaciones en la dosis dependen de las propiedades del polvo como fluidez y densidad. Estas desviaciones del peso, inadmisibles, son inevitables a menos que se practique posteriormente un control de peso. Lo mismo puede aplicarse a los aparatos dispensadores de polvo. Las máquinas envasadoras de polvo también dosifican según volumen. La buena exactitud de las dosis se consigue en estos casos normalizando las propiedades del polvo, por adición de fluentes o mediante granulación (Voigt, 1982).

**Equipo.**

**Figura 59.** Dispositivo de sedimentación

El dispositivo de sedimentación (Figura 59) (PHARMATEST PT-TD, Alemania) consta de lo siguiente:

- un aparato de sedimentación capaz de producir en 1 min  $250 \pm 15$  golpes suaves de una altura de  $3 \pm 0,2$  mm. El soporte para la probeta, con su dispositivo de fijación, tiene una masa de  $450 \pm 5$  g.
- una probeta de 250 mL, graduada en intervalos de 2 mL, con una masa de  $220 \pm 40$  g.

**Procedimiento (RFE 2.9.15.).**

Introducir en la probeta seca 100,0 g de la sustancia sometida a examen, sin compactar. Si esto no es posible, seleccionar un peso de muestra adecuado para obtener un volumen aparente comprendido entre 50 ml y 250 ml y especificar dicho peso en el cálculo del resultado. Asegurar la probeta en su soporte. Leer el volumen aparente sin sedimentar  $V_0$  con una aproximación de un mililitro. Efectuar 10, 500 y 1250 golpes y leer los correspondientes volúmenes  $V_{10}$ ,  $V_{500}$  y  $V_{1250}$  con una aproximación de un mililitro. Si la diferencia entre  $V_{500}$  y  $V_{1250}$  es mayor que 2 ml, volver a efectuar 1250 golpes.

**Expresión de los resultados.**

a) Volúmenes aparentes:

- volumen aparente antes de sedimentar o volumen bruto:  $V_0$  ml,
- volumen aparente después de sedimentar o volumen sedimentado:  $V_{1250}$  ml o  $V_{2500}$  ml.

b) Capacidad de sedimentación: diferencia  $V_{10}$  ml -  $V_{500}$  ml.

c) Densidades aparentes:

- densidad aparente antes de sedimentar o densidad del producto bruto:  $m/V_0$  (gramos por mililitro), (densidad de llenado),

- densidad aparente después de sedimentar o densidad del producto compactado:  $m/V_{1250}$  o  $m/V_{2500}$  (gramos por mililitro), (densidad golpeada).

d) A partir de las densidades aparentes calculamos los Índices de Carr y de Hausner:

$$IC \% = (V_0 - V_F / V_0) \times 100$$

$$IC \% = (1 - (CASC / DACC)) \times 100$$

$$IH = DACC / DASC$$

En función de estos cálculos podemos determinar la capacidad de flujo del polvo mediante la siguiente tabla (tabla 12):

Índice de Carr (IC %)	Propiedades de flujo	Índice de Hausner
5-15	Excelentes	
12-18	Buenas	<1.25
* 18-21	Aceptables	*
* 23-35	Pobres	>1.5
33-38	Muy pobres	
> 40	Prácticamente nulas	

\* Mejorables con adición de lubricantes.

**Tabla 12.** Límites para la determinación de la capacidad de flujo en función de la relación de los Índices de Carr y Hausner.

### Resultados y discusión

En la tabla 13 se incluyen los datos de densidades aparentes antes (DASC) y después de compactar (DACC), Índice de Carr (IC) e Índice de Hausner (IH) para cada deshidratado vegetal objeto de estudio, así como los datos de la mezcla de todos ellos que forman una de las formulaciones desarrolladas.



<b>Vegetales</b>	<b>DASC (g/ml)</b>	<b>DACC (g/ml)</b>	<b>IC (%)</b>	<b>IH</b>
<b>Alcachofa</b>	0.36 ± 0.1	0.51 ± 0.03	29 ± 0.2	1.42 ± 0.04
<b>Borraja</b>	0.44 ± 0.1	0.65 ± 0.04	32 ± 0.2	1.48 ± 0.05
<b>Col-Brócoli</b>	0.48 ± 0.05	0.64 ± 0.1	25 ± 0.2	1.33 ± 0.1
<b>Espárrago</b>	0.36 ± 0.1	0.44 ± 0.1	18 ± 0.1	1.22 ± 0.1
<b>Judía</b>	0.42 ± 0.2	0.63 ± 0.2	33 ± 0.2	1.5 ± 0.2
<b>Limón</b>	0.46 ± 0.2	0.62 ± 0.1	26 ± 0.1	1.35 ± 0.2
<b>Pimiento</b>	0.41 ± 0.1	0.59 ± 0.05	31 ± 0.05	1.44 ± 0.1
<b>Tomate</b>	0.38 ± 0.1	0.49 ± 0.1	22 ± 0.2	1.29 ± 0.05
<b>Zanahoria</b>	0.44 ± 0.05	0.55 ± 0.1	20 ± 0.1	1.25 ± 0.1
<b>Mezcla de vegetales</b>	0.42 ± 0.1	0.56 ± 0.1	25 ± 0.1	1.33 ± 0.1

**Tabla 13.** Datos de densidades antes (DASC) y tras compactación (DACC), Índice de Carr (IC) e Índice de Hausner (IH) para todos los vegetales y la mezcla de todos ellos.

Según los límites presentados en la tabla 12, basados en las especificaciones de la RFE, relacionando los Índices de Carr y de Hausner, obtenidos a partir de volúmenes y de densidades aparentes con y sin compactación, podemos determinar la capacidad de flujo de nuestras muestras vegetales.

De esta manera observamos que la judía posee capacidad de flujo pobre, la alcachofa, borraja, pimiento, limón y col-brócoli una capacidad de flujo de aceptable a pobre, el tomate aceptable y el espárrago y la zanahoria de aceptables a buenas.

En cuanto a la mezcla de todos los vegetales, era de esperar que, debido al pequeño tamaño de partícula así como a la forma que presentan cada una de ellas, que posea una pobre fluidez debido a las cargas electrostáticas generadas entre ellas y los efectos de cohesión ocasionados. Indudablemente, esta situación, puede ser mejorable mediante la adición de lubricantes o bien elaborando otra alternativa de formulación.

La reología se encarga del estudio de las propiedades de flujo (Roche y cols., 2006) y de deformación de los materiales. Aunque puede resultar sorprendente que englobe dos aspectos en principio tan distintos, es importante señalar que flujo y deformación deben considerarse de manera conjunta, ya que, en el caso de los sólidos pulverulentos, el que tenga lugar un desplazamiento o una deformación de sus partículas depende, fundamentalmente, de la intensidad de las fuerzas que, al ser aplicadas, promueven esos procesos.

Presentan una gran importancia en Tecnología Farmacéutica debido a que condicionan la aplicación de un considerable número de operaciones básicas implicadas en la elaboración de numerosas formas farmacéuticas sólidas, como, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, granulados, etc. Las propiedades reológicas condicionan también la calidad de la forma farmacéutica en aspectos tan importantes como la uniformidad de peso y el contenido en principio activo.

Probablemente, ello tiene su origen en que los sólidos pulverulentos, al estar constituidos por partículas discretas, individualizadas, presentan una estructura discontinua que impide su tratamiento como sistemas continuos. No obstante, se ha comprobado que la práctica totalidad de las propiedades que caracterizan a un sólido ejercen una influencia, más o menos marcada, sobre su comportamiento reológico.

De hecho las propiedades de flujo de una sustancia pulverulenta están afectadas por los cambios de tamaño de partícula, de la humedad absorbida, de la densidad, de la forma y de las cargas electrostáticas, factores que pueden provocarse durante la etapa de formulación. En este sentido, debemos relacionar íntimamente la capacidad de flujo de las muestras con cambios en la humedad así como con el tamaño de partícula obtenido finalmente (<63 micras). Posiblemente, el tamaño de partícula al ser tan pequeño, favorece las fuerzas atractivas haciendo que se formen pequeños aglomerados que dificultan la velocidad de flujo de la muestra.

El valor de densidad aparente de un sólido pulverulento tiene gran interés sobre todo cuando se va a dosificar una dosis grande en cápsulas o sobres o bien en el caso de que formen parte de una formulación en la que es minoritaria y su densidad es muy diferente a la del resto de los componentes.

Por tanto, debido a la baja fluidez que presentan la gran mayoría de los vegetales sería un inconveniente si la muestra fuera destinada a su dosificación en sobres unidosos. En

principio, el polvo podría estar destinado a su presentación a granel. Para su posterior presentación en sobres unidos o bien para su uso en la elaboración de algún otro tipo de forma farmacéutica se recurriría a la utilización de excipientes, tales como lubricantes, que favorecerán este proceso.

A la hora de mejorar esta formulación, es importante distinguir que algunas propiedades, como la estructura molecular, la composición química o la densidad real no pueden ser alteradas, sin embargo otras, como el tamaño y la forma de las partículas o el contenido en humedad del sólido, son susceptibles de ser manipuladas, y que constituyen la base de diferentes recursos tecnológicos dirigidos a modificar su comportamiento reológico. (Staniforth, 1988).

Una característica común de los sólidos pulverulentos es oponer cierta resistencia a movilizarse cuando son sometidos a la acción de una fuerza externa. (Schneider, 2007) Se debe a la actuación de una serie de fuerzas de distinta naturaleza que se agrupan, denominadas “fuerzas de cohesión”. Por lo tanto, se entiende por cohesión la tendencia que presentan las partículas de un material a permanecer unidas entre si.

Básicamente, es posible distinguir cuatro tipos de fuerzas atractivas que actúan entre partículas contiguas:

- Fuerzas de Van der Waals, cuyo valor está muy ligado al tamaño de partícula, de manera que su intensidad experimenta fuertes incrementos al disminuir este.
- Fuerzas electrostáticas.
- Fuerzas capilares debidas a la presencia de películas acuosas en los espacios interparticulares o a la humedad adsorbida sobre la superficie de las partículas, con la consiguiente formación de puentes líquidos de unión.
- Fuerzas de fricción que resulta del entrecruzamiento de partículas de forma irregular y de la fricción de sus superficies en los puntos de contacto.

Dado que todas las fuerzas indicadas son de carácter atractivo, dificultan el desplazamiento de las partículas. Por esta razón, para que éste tenga lugar, es necesario aplicar una fuerza externa de intensidad superior a la de cohesión. En estas condiciones, las propiedades de flujo de un sólido pulverulento son el resultado de la interacción entre las fuerzas de tipo cohesivo y las aplicadas externamente. Entre las fuerzas que

promueven el flujo se incluyen las fuerzas de la gravedad y todas las fuerzas mecánicas que se aplican de manera externa. En consecuencia, cuanto menor sea la resultante de las fuerzas atractivas entre las partículas de un sólido pulverulento, menor será la intensidad de la fuerza externa necesaria para superarlas, es decir, mejores serán sus propiedades de flujo (Svarovsky, 1987).

Por otro lado, la intensidad de las fuerzas de cohesión es proporcional a la superficie de contacto entre las partículas y por tanto dependerá de su geometría de empaquetamiento.

Si se considera un conjunto de partículas de un sólido pulverulento, éstas ocuparán un determinado volumen en el espacio, formando un lecho de polvo en equilibrio estático. Este equilibrio proviene de la interacción de las fuerzas gravitacionales y las fuerzas cohesivas. Si se aplica una fuerza mecánica externa, por ejemplo una vibración, las partículas se pueden movilizar de tal modo que, al cesar la vibración, el lecho estará de nuevo en equilibrio, pero ocupando un volumen espacial distinto, menor que el inicial.

Este cambio en el volumen ocupado por el sólido se habrá producido por un reordenamiento de las partículas que, en general, es el resultado de la transición de un empaquetamiento particular más suelto a otro más cerrado. De manera simultánea a esta reordenación, se produce un incremento en la intensidad de las fuerzas de cohesión como consecuencia del aumento en la superficie de contacto entre las partículas.

En nuestro caso, los sólidos pulverulentos presentan distintos valores de densidad aparente, dependiendo de su geometría de empaquetamiento, ya que el volumen de los espacios interparticulares puede tomar una gama muy amplia de valores. En este sentido el estudio microfotográfico (ver forma de las partículas) corrobora los resultados de flujo de la fórmula estudiada.

Parece conveniente, por tanto, la elaboración de nuevas formas farmacéuticas como el granulado efervescente y sacaruro con el objetivo principal de disminuir la superficie específica de las partículas y mejorar la geometría de empaquetamiento.

Ambos granulados fueron sometidos a este ensayo para comprobar si se mejoraban las propiedades de flujo de la mezcla de vegetales de la que partíamos.

El Índice de Hausner es un parámetro que está relacionado con la fricción interparticular, se expresa como la relación entre la densidad aparente tras la compactación y la densidad aparente sin compactar, y, como tal, se utiliza para predecir

las propiedades de flujo del granulado. En los granulados obtenidos, al presentar un tamaño de partícula medio, la relación es próxima a 1.2, demostrando en nuestro caso que la fricción interparticular es baja, por lo que la capacidad de flujo se verá incrementada.

En la tabla 14 vemos reflejados los valores obtenidos de densidad aparente antes de compactar (DASC), tras la compactación (DACC), Índice de Carr (IC) e Índice de Hausner (IH) para las formulaciones desarrolladas (granulado efervescente y granulado sacaruro).

<b>Forma farmacéutica</b>	<b>DASC (g/ml)</b>	<b>DACC (g/ml)</b>	<b>IC (%)</b>	<b>IH</b>
<b>Granulado efervescente</b>	0.5 ± 0.1	0.573 ± 0.1	12.5 ± 0.1	1.15 ± 0.1
<b>Granulado sacaruro</b>	0.5 ± 0.1	0.575 ± 0.2	13 ± 0.1	1.15 ± 0.1

**Tabla 14.** Datos de densidades antes (DASC) y tras compactación (DACC), Índice de Carr (IC) e Índice de Hausner (IH) para los granulados efervescente y sacaruro.

Si tenemos en cuenta estos resultados obtenidos en el ensayo de volumen aparente para los granulados sacaruro y efervescente, relacionando las densidades aparentes antes y después de compactar, así como los Índices de Carr y de Hausner, según los datos utilizados en la tabla 12, podemos decir que ambos presentan de buenas a excelentes capacidades de flujo. Por lo tanto nuestras formas de dosificación cumplen satisfactoriamente nuestras expectativas de capacidad de flujo.

En los ensayos de tamaño de partícula hemos obtenido tamaños próximos a 2 mm de grosor, teniendo en cuenta este aumento del tamaño de partícula y relacionándolo con que tanto el granulado efervescente como el sacaruro presentan una forma de partícula regular y bastante homogénea, podemos corroborar estos resultados de mejora en la capacidad de flujo. Al aumentar el tamaño de las partículas disminuimos la superficie específica de éstas, por lo que evitamos la formación de aglomerados al aparecer cargas electrostáticas que provocan la adherencia de unas partículas con otras y con las paredes de los dispositivos utilizados. Mejoramos también la capacidad de flujo al disminuir la higroscopicidad de la fórmula, ya que los granulados, debido al tamaño de partícula,

absorben menor cantidad de humedad, reteniéndola pero manteniendo una buena capacidad de fluencia.



## **CAPACIDAD DE FLUJO**

### **Introducción.**

El ensayo de capacidad de flujo tiene por objetivo determinar la capacidad de sólidos divididos (por ejemplo, polvos y granulados) para fluir verticalmente, bajo condiciones definidas.

El ángulo de reposo, junto con la densidad, constituye una de las medidas más habituales para conocer la capacidad de flujo de un producto, ya sea polvo o granulados. El flujo libre del granulado o de los polvos no sólo depende de la fuerza gravitacional a la que están sometidos, sino que también está condicionado por las fuerzas derivadas de la fricción interparticular, por lo que existe una estrecha relación entre el ángulo de reposo, el flujo y la forma de las partículas.

### **Equipo.**

El aparato (ERWEKA, Alemania) (Figura 60) utilizado consta de un embudo que se mantiene en posición vertical mediante un dispositivo adecuado el cual es sometido a vibración.



**Figura 60.** Dispositivo de capacidad de flujo.

### **Procedimiento (RFE 2.9.16.).**

Introducir sin compactar en un embudo seco, cuyo orificio inferior ha sido bloqueado por un medio adecuado, 100.00 gramos de muestra de la sustancia sometida a examen, pesada con un 0,5 por ciento de precisión. La cantidad de muestra depende del volumen aparente y del aparato utilizado. Destapar el embudo por la parte inferior y medir el tiempo necesario para que toda la muestra salga del embudo. Llevar a cabo tres determinaciones. Una vez que ha caído todo el polvo, medir con una regla la altura y el diámetro del cono formado por la muestra al caer sobre una superficie lisa.



**Expresión de los resultados.**

La capacidad de flujo se expresa en segundos y décimas de segundo con relación a 100 g de muestra. Los resultados dependen de las condiciones de conservación del material sometido a examen.

Los resultados pueden expresarse como sigue:

- a) como la media de las 3 determinaciones, si ninguno de los valores individuales se desvía del valor medio más del 10 por ciento,
- b) como un intervalo, si los valores individuales se desvían del valor medio más del 10 por ciento,
- c) en forma gráfica, como una curva de la masa frente al tiempo de flujo,
- d) como un tiempo infinito, si la muestra no llega a caer completamente.

El ángulo de reposo se determina midiendo el ángulo de la pendiente del cono que se produce cuando cae el polvo por el embudo. Cuanto menor sea la altura del cono, menor será el ángulo, por lo que las propiedades de flujo serán mejores.

$$\operatorname{tg} \gamma = h / r$$

Relacionando el IC (Índice de Carr) obtenido en el ensayo de volumen aparente/densidad aparente y el ángulo formado por el polvo una vez que cae totalmente del embudo del dispositivo, la capacidad de flujo vendrá determinada según el ángulo de reposo obtenido, por tanto:

- $\gamma < 30^\circ$ : fluyen fácilmente
- $30^\circ < \gamma < 50^\circ$ : flujo difícil
- $\gamma > 50^\circ$ : No hay flujo libre

**Resultados y discusión.**

Según los datos reflejados en la tabla 15 todos los vegetales poseen una capacidad de flujo difícil presentando un ángulo de reposo comprendido entre  $35.75^\circ$  y  $42.61^\circ$ . Los resultados aquí incluidos se expresan como la media de tres determinaciones, de las cuales, ninguna de ellas se desvía del valor medio más del 10%.

	<b>h: Altura del cono (cm)</b>	<b>r: Radio del cono (cm)</b>	<b><math>\gamma</math>: Ángulo de reposo</b>	<b>Capacidad de flujo</b>
<b>Alcachofa</b>	5.33 $\pm$ 0.3	6.75 $\pm$ 0.5	38.31° $\pm$ 0.1	Flujo difícil
<b>Borraja</b>	6.00 $\pm$ 0.2	6.50 $\pm$ 0.4	42.61° $\pm$ 0.3	Flujo difícil
<b>Col-Brócoli</b>	5.55 $\pm$ 0.3	6.25 $\pm$ 0.4	41.67° $\pm$ 0.3	Flujo difícil
<b>Espárrago</b>	6.17 $\pm$ 0.4	8.59 $\pm$ 0.1	35.75° $\pm$ 0.2	Flujo difícil
<b>Judía</b>	4.33 $\pm$ 0.2	5.00 $\pm$ 0.3	41.02° $\pm$ 0.4	Flujo difícil
<b>Limón</b>	6.67 $\pm$ 0.2	6.00 $\pm$ 0.4	47.98° $\pm$ 0.2	Flujo difícil
<b>Pimiento</b>	6.33 $\pm$ 0.2	6.34 $\pm$ 0.4	45° $\pm$ 0.2	Flujo difícil
<b>Tomate</b>	4.17 $\pm$ 0.4	5.59 $\pm$ 0.4	36.87° $\pm$ 0.3	Flujo difícil
<b>Zanahoria</b>	5.00 $\pm$ 0.3	6.67 $\pm$ 0.4	36.87° $\pm$ 0.4	Flujo difícil
<b>Mezcla de vegetales</b>	6.00 $\pm$ 0.3	6.75 $\pm$ 0.3	41.67° $\pm$ 0.3	Flujo difícil

**Tabla 15.** Determinación del ángulo de reposo y la capacidad de flujo de cada uno de los vegetales así como para la mezcla de todos ellos.

Los datos mostrados en la tabla 15 determinan la capacidad de flujo de la mezcla de todos los vegetales en función de la medida del ángulo de reposo. Según éstos la mezcla de todos ellos presenta, igualmente, una capacidad de flujo deficiente con valores de ángulo de reposo similares a los de los vegetales aislados mostrados en la misma tabla.

El ángulo de reposo junto con la medida del volumen aparente y densidad aparente son factores que están íntimamente ligados a la determinación de la capacidad de flujo de un sólido pulverulento. Ambos nos van a dar una idea de las propiedades de flujo que presentan las muestras estudiadas, por lo que los datos obtenidos en este ensayo de ángulo de reposo justifican todo lo discutido en el ensayo anterior.

Asimismo, la forma de las partículas ensayadas y tamaño inferior a 63 micras ya hacía esperar ángulos de reposo muy poco aplanados debido entre otras causas a su alta cohesión por fuerzas interparticulares.

En la tabla 16 se muestran los datos obtenidos sobre la capacidad de flujo de los granulados sacaruro y efervescente respectivamente, relacionando para ello la altura y el radio del cono formado por el granulado a su paso por el embudo.

Para estas muestras y como era de esperar, dado el tamaño de partícula de los granulados, los ángulos de reposo formados presentaban valores bastante más bajos que

los obtenidos para la mezcla de vegetales deshidratados, dando lugar así a una buena capacidad de flujo.

<b>Muestra</b>	<b>h: Altura del cono</b>	<b>r: Radio del cono</b>	<b><math>\gamma</math>: Angulo de reposo</b>	<b>Capacidad de flujo</b>
<b>Granulado Sacaruro</b>	$3.2 \pm 0.01$	$6 \pm 0.03$	$28.057^\circ \pm 0.01$	Flujo fácil
<b>Granulado Efervescente</b>	$3.3 \pm 0.02$	$5.9 \pm 0.02$	$29.248^\circ \pm 0.01$	Flujo fácil

**Tabla 16.** Ángulo de reposo y capacidad de flujo del granulado sacaruro y efervescente

Los granulados obtenidos son más grandes, esféricos e isodiamétricos que los vegetales deshidratados de los que partíamos, presentando un tamaño y una forma más apropiada con la que se reducen los efectos de carga eléctrica y fricción, facilitando, por tanto, las propiedades de flujo de la mezcla de vegetales.

## **GRADO DE HUMEDAD Y PÉRDIDA DE PESO**

### **Introducción:**

El componente más abundante que está presente en los alimentos es el agua. La determinación del contenido de agua es uno de los análisis más importantes llevados a cabo en los productos alimenticios, y también una de las analíticas más dificultosas en obtener datos repetitivos y precisos.

El contenido en agua de un producto se define convencionalmente como la pérdida de masa que experimenta en condiciones determinadas.

La materia seca que permanece una vez que ha sido retirada la humedad la denominamos sólidos totales.

El contenido en humedad de un producto se utiliza como parámetro de referencia para la comercialización de alimentos deshidratados, al asumirse que por debajo de ciertos niveles, queda inhibido el crecimiento de la mayoría de microorganismos (Bolin, 1980). Además, este parámetro influye de forma determinante en la evolución del color ya que, por ejemplo, el agua misma es uno de los reactivos que intervienen en las reacciones de Maillard, que tienen como consecuencia el pardeamiento del alimento y la pérdida de su valor comercial. Muchas otras propiedades y reacciones de deterioro, tales como la textura, procesos de oxidación y valor nutritivo, son función también del contenido en humedad (Sapru y Labuza, 1996).

De forma resumida, la determinación de agua en un alimento es importante por las siguientes razones:

- a) Requerimientos legales y de etiquetaje: existen límites legales de máxima o mínima cantidad de agua o sólidos totales que deben estar presentes en ciertos tipos de alimentos. La cantidad de humedad es un dato que se utiliza en otras determinaciones analíticas para expresar el resultado.
- b) Factor de calidad: la textura, sabor, apariencia y estabilidad de los alimentos depende de la cantidad de agua que contienen.
- c) Estabilidad microbiana: el crecimiento microbiano en los alimentos depende de su contenido de agua. Por esta razón diferentes alimentos son secados por debajo de un contenido crítico de humedad.

d) Operaciones de procesado de alimentos: el conocimiento de la cantidad de humedad es necesario para predecir el comportamiento de los alimentos durante su procesado (mezcla, secado, envasado)

e) Económica: el coste de muchos alimentos depende muchas veces de la cantidad de humedad que contienen; el agua es un ingrediente barato, y los fabricantes a menudo lo intentan incorporar en lo posible, teniendo en cuenta no exceder el máximo permitido.

Cabe destacar, que el proceso de deshidratación no solo es un buen método de conservación, sino que presenta una gran ventaja para la comercialización, ya que al retirar la mayor parte del agua, los productos se reducen en peso y en tamaño (Hymavathi y Vijaya, 2005), siendo más fáciles de almacenar y de transportar.

### Equipos y reactivos:



**Figura 61.** Termobalanza

El ensayo de la determinación de humedad en los deshidratados vegetales se lleva a cabo en una Termobalanza (GIBERTINI EURO THERM, Italia) (Figura 61), a una temperatura constante de 70° C, según las indicaciones especificadas por la AOAC (Scientific Association in Analytical Methods). La Termobalanza consta de las siguientes partes:

- cuerpo de la Termobalanza
- horno y sistema de control de la temperatura
- sistema de adquisición y registro de datos
- alimentación y sistema de control de flujo de gases
- conexión de salida de gases a espectrómetro de infrarrojos.

**Procedimiento analítico:**

Pesamos 3 gramos de muestra en la termobalanza. Es importante exponer el mínimo tiempo posible la muestra a atmósfera abierta para evitar que capte más humedad. El procedimiento se lleva a cabo 70° C y se considera finalizado cuando se alcanza el peso estable. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado (AOAC, 1990).

Expresamos los resultados de la siguiente manera:

$$H \% = (M1-M2/M3) \times 100$$

La diferencia de peso antes y después de secar de esta manera las muestras se atribuyó al contenido en humedad.

Siendo:

M1= Peso de los 3g de muestra.

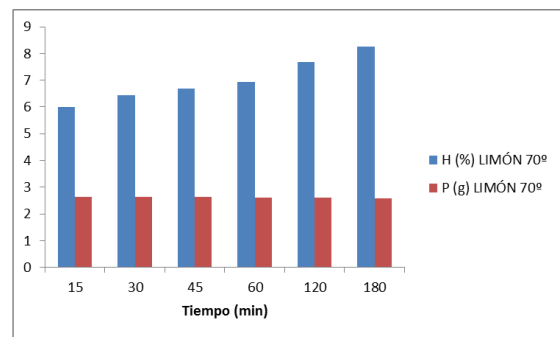
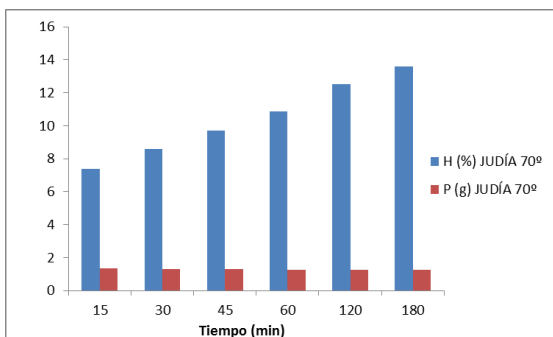
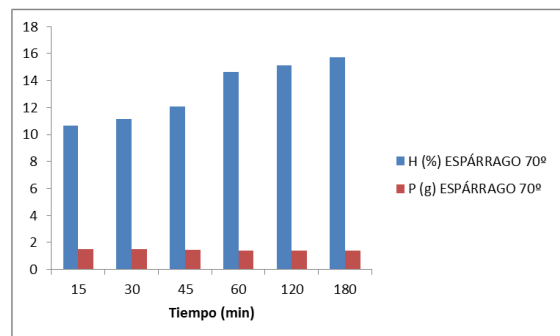
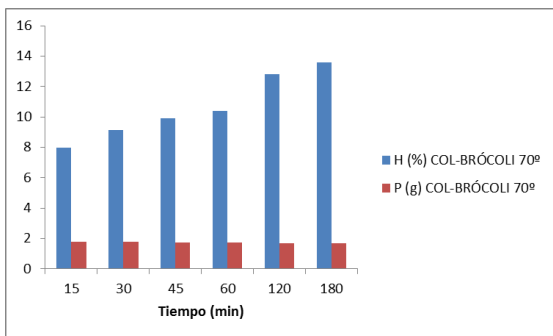
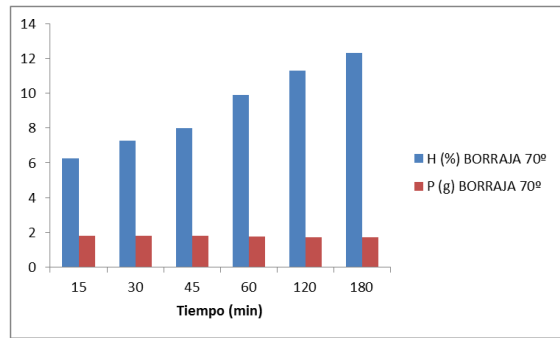
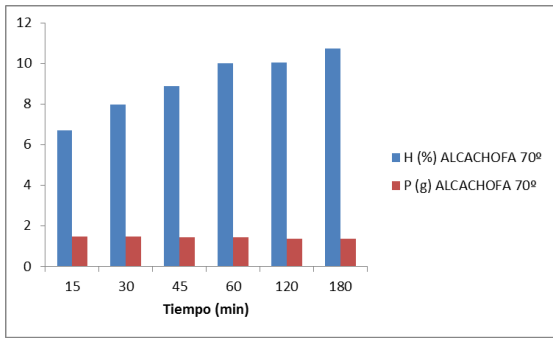
M2= Peso de la muestra después de la desecación en gramos.

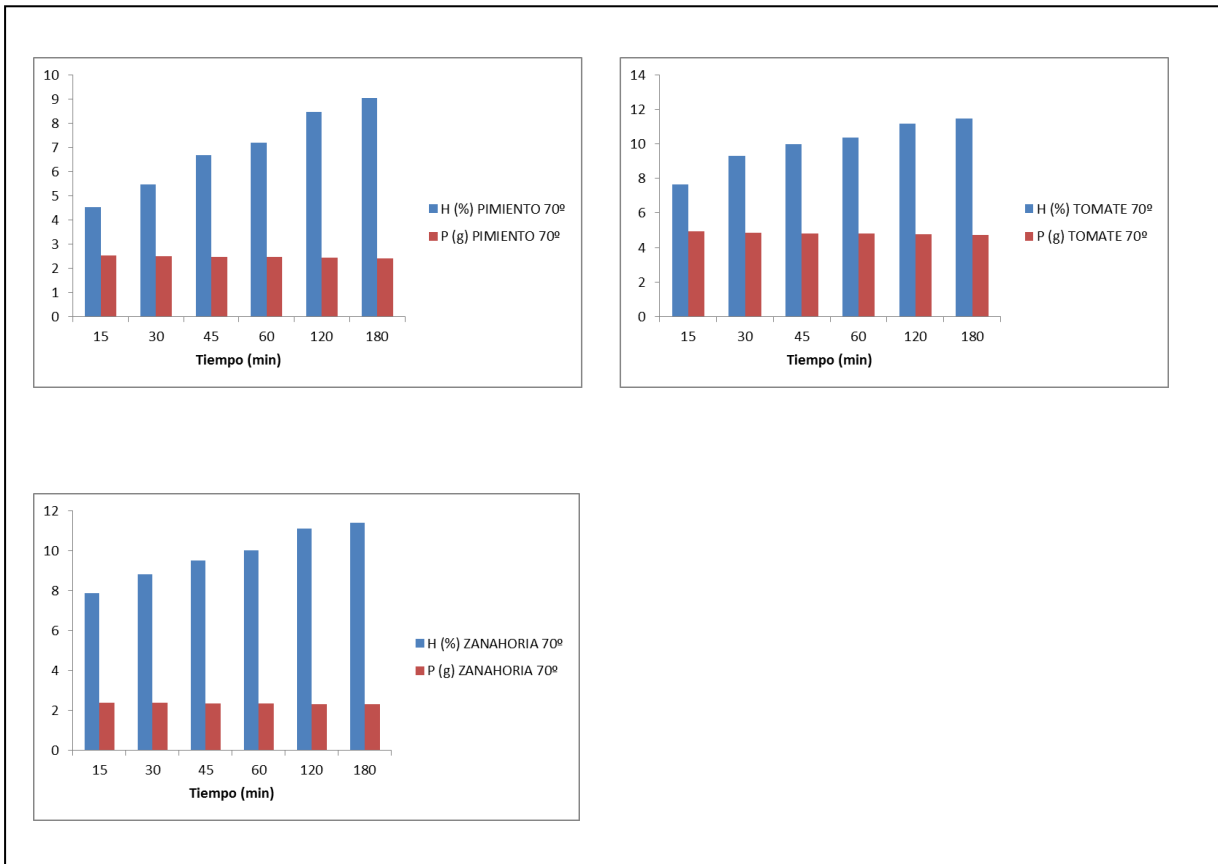
M3= Peso real de la muestra en gramos.

A cada tiempo correspondiente al análisis de la humedad de una muestra, se procede previamente a pesar su contenido en la balanza empleada para la determinación de la humedad. Por comparación con el peso neto inicial de muestra y el obtenido a lo largo del estudio, se obtiene el porcentaje de pérdida de peso.

**Resultados y discusión**

Según el procedimiento detallado en el análisis de humedad, se obtuvieron datos relativos a las humedades presentadas para cada uno de los deshidratados vegetales. Entre los principales parámetros físicos fue examinada la pérdida de peso a cada tiempo correspondiente al análisis de la humedad de una muestra. El tiempo necesario para la determinación en termobalanza de ambos parámetros fue de 180 minutos. La figura 62 muestra la evolución de la puesta a punto de la metódica.





**Figura 62.** Datos de Humedad (%) y Peso (g) a lo largo del tiempo para todos los vegetales objeto de estudio.

En primer lugar los ensayos se realizaron para cada uno de los vegetales que forman la mezcla de deshidratados en polvo (Tabla 17). Las determinaciones de las muestras almacenadas bajo diferentes condiciones de temperatura se llevaron a cabo durante los tres meses de estudio.



Tiempo	0 días		90 días					
	25°		4°		25°		40°	
Tª (° C)	25°		4°		25°		40°	
Parámetro	H (%)	P (%)	H (%)	P (%)	H (%)	P (%)	H (%)	P (%)
Alcachofa	10.73±0.1	46±0.1	11.09±0.2	37.60±0.1	11.56±0.2	41±0.2	5.75±0.1	28.33±0.2
Borraja	12.94±0.3	56.66±0.2	13.35±0.2	52.65±0.3	13.78±0.1	48.33±0.1	6.23±0.2	26±0.2
Col-brócoli	13.32±0.1	55.66±0.2	17.76±0.2	47±0.4	19.65±0.1	44.33±0.1	6.54±0.1	26.66±0.1
Espárrago	15.70±0.1	47±0.2	20.63±0.2	41.66±0.2	26.63±0.1	35.33±0.2	7.07±0.2	23.66±0.2
Judía	14.70±0.2	41.62±0.1	16.13±0.1	40±0.2	16.38±0.1	39.66±0.2	6.93±0.2	20.33±0.2
Limón	8.64±0.1	76.33±0.2	10.04±0.1	49.61±0.2	13.40±0.5	52.66±0.1	4.05±0.1	36±0.3
Pimiento	10.16±0.1	80.33±0.1	15.13±0.1	75.64±0.1	19.10±0.4	68.33±0.3	5.58±0.3	43±0.2
Tomate	11.63±0.3	91±0.2	17.72±0.2	79±0.2	20.69±0.4	77.33±0.2	6.02±0.2	48.33±0.3
Zanahoria	11.40±0.1	77±0.1	11.64±0.1	73±0.2	12.17±0.4	73.66±0.1	5.98±0.1	38.33±0.1

**Tabla 17.** Valores de % Humedad y % de Pérdida de peso obtenidos a 70 °C para todos los vegetales deshidratados.

Es importante tener en cuenta que la extracción del agua del vegetal va a depender de la estructura interna que presente cada uno de ellos, de tal manera que, será más difícil extraer el agua intercelular de aquellos vegetales que presenten una estructura más compleja, ya que en este caso se encontrará más ligada a ella (Aidoo y cols., 2010). De ahí que para algunos vegetales (espárrago, judía) no se corresponda el %H con %P, probablemente debido a la estructura fibrosa de estos.

Salunkhe y cols., (1973) (Salunkhe y cols., 1973) clasifican los procesos de deterioro del alimento según el contenido en humedad del siguiente modo:

- a) un contenido en agua en torno al 30%; estos alimentos se han de someter a tratamientos térmicos o químicos para inhibir el crecimiento microbiano.

- b) la humedad oscila entre un 20 y un 30%; en estos niveles de humedad el alimento empieza a ser estable con relación al crecimiento microbiano. Suele aceptarse que los límites para dicho crecimiento son 30% para las bacterias, 29% para las levaduras y 25% para los mohos.
- c) si el contenido en humedad está por debajo del 20%; son alimentos resistentes al deterioro microbiano, menos susceptibles a las reacciones de Maillard y más a las de oxidación de lípidos que los de humedad intermedia.

En base a estos criterios todas las muestras, con indiferencia de la temperatura o tiempo ensayado, a excepción del espárrago deshidratado, presentaron porcentajes de humedad menores al 20%, lo que presumiblemente los hará resistentes a la contaminación microbiológica.

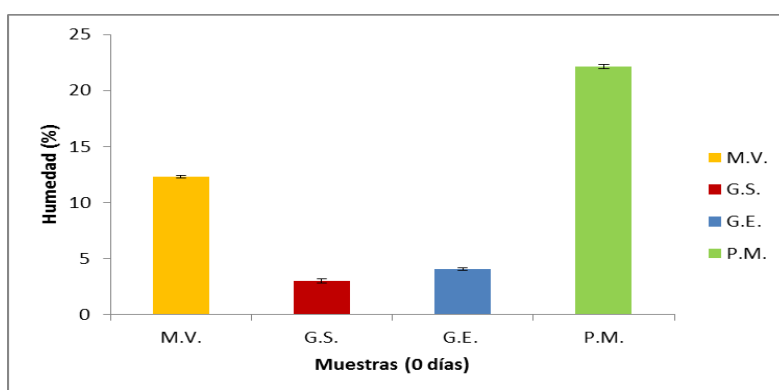
Para cada uno de los vegetales, los valores de humedad determinados a 90 días de conservación presentan variaciones con respecto a los valores tomados en el inicio del ensayo. Estas diferencias son muy acusadas en el caso de las muestras almacenadas a una temperatura de 40° C. En este caso el valor del grado de humedad para todos los vegetales deshidratados, disminuye considerablemente, ya que se evapora gran cantidad del agua presente en la muestra. Estudios posteriores deberían ir encaminados al estudio de la influencia de la temperatura sobre diferentes materiales de envasado.

Tras la elaboración de las distintas formas farmacéuticas (mezcla de polvos de vegetales, granulado sacaruro, granulado efervescente y pastillas masticables), se determinó el contenido en humedad en cada una de ellas (Tabla 18). La prueba se realizó de igual manera a 70° C, según indicaciones de la AOAC.

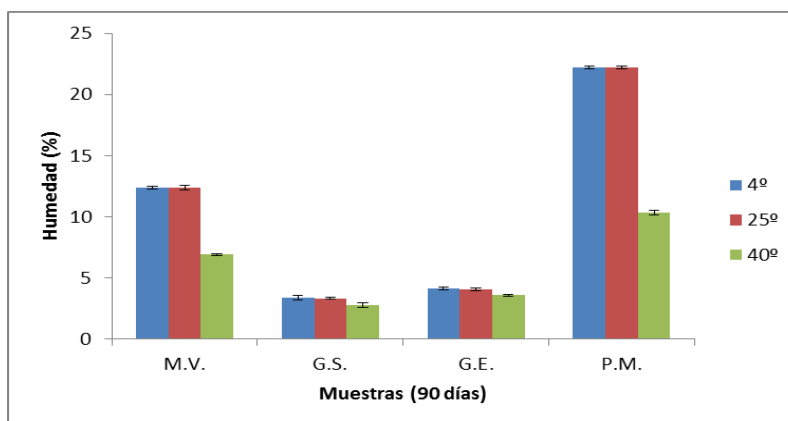
t (días)	T <sup>a</sup> (°C)	M.V.		G.S.		G.E.		P.M.	
		H (%)	P (%)	H (%)	P (%)	H (%)	P (%)	H (%)	P (%)
0 días	25°	12.29±0.1	45±0.1	3.00±0.2	49±0.2	4.05±0.1	47±0.2	22.14 ± 0.2	35±0.0
90 días	4°	12.40±0.1	38.92±0.1	3.35±0.2	44±0.2	4.12±0.1	44±0.1	22.23 ± 0.1	32±0.1
	25°	12.37±0.2	41.50±0.1	3.33±0.1	41±0.0	4.08±0.1	49.2±0.1	22.21 ± 0.1	30±0.1
	40°	6.90±0.1	23.33±0.2	2.78±0.2	48.9±0.1	3.57±0.1	47±0.0	10.31 ± 0.2	17.2±0.2

**Tabla 18.** Humedad (%) y Pérdida de peso (%) de las formas de dosificación elaboradas al inicio y tras 90 días de conservación a 4°, 25° y 40° C.

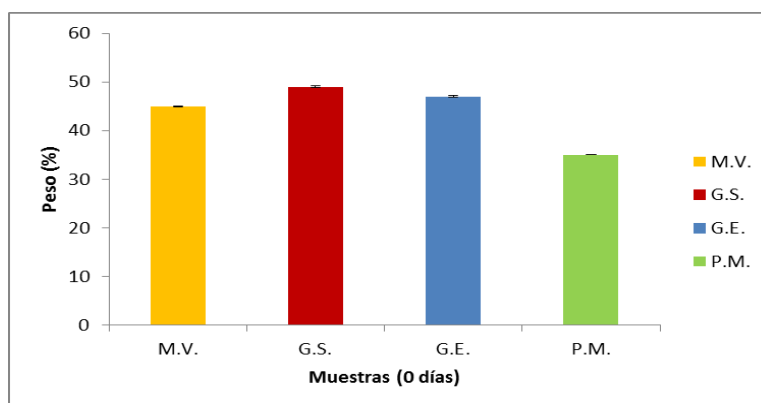
Estos datos se pueden ver reflejados en las figuras 63-66 que a continuación se exponen.



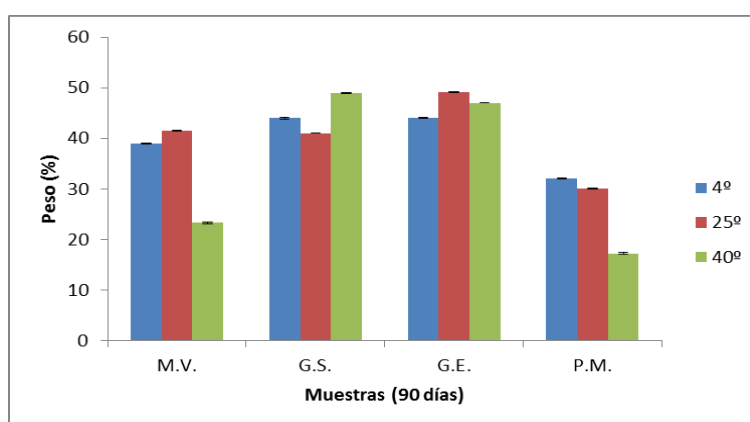
**Figura 63.** Humedad (%) de todas las formas de dosificación de deshidratados vegetales a 0 días (25° C). Referencias de la figura: M.V.: Mezcla de vegetales, G.S.: Granulado sacaruro, G.E.: Granulado efervescente, P.M.: Pastillas masticables.



**Figura 64.** Humedad (%) de todas las formas de dosificación de deshidratados vegetales tras 90 días de conservación a 4°, 25° y 40° C. Referencias de la figura: M.V.: Mezcla de vegetales, G.S.: Granulado sacaruro, G.E.: Granulado efervescente, P.M.: Pastillas masticables



**Figura 65.** Peso (%) de todas las formas de dosificación de deshidratados vegetales a 0 días (25° C). Referencias de la figura: M.V.: Mezcla de vegetales, G.S.: Granulado sacaruro, G.E.: Granulado efervescente, P.M.: Pastillas masticables.



**Figura 66.** Peso (%) de todas las formas de dosificación de deshidratados vegetales tras 90 días de conservación a 4°, 25° y 40° C. Referencias de la figura: M.V.: Mezcla de vegetales, G.S.: Granulado sacaruro, G.E.: Granulado efervescente, P.M.: Pastillas masticables

Pese al bajo contenido en humedad presente en la mezcla de vegetales en polvo (12.29% ± 0.1), este favorece la unión entre las partículas, haciendo que se adhieran unas a otras, y por consiguiente, provocando un aumento en la superficie de contacto entre las mismas, perjudicando de esta manera la capacidad de flujo de los vegetales y por tanto de la mezcla de todos ellos (Ortiz y cols., 2008).

En cambio, ambos granulados, tanto el sacaruro como el efervescente, muestran contenidos en humedad mucho más bajos que la mezcla de polvos original (3.00 y 4.05 %, respectivamente).

La humedad residual de los granulados tiene gran importancia, fundamentalmente por su influencia sobre las características de flujo, compresión y consolidación del granulado. Un alto contenido en la humedad puede inducir un aumento en la dureza de la forma farmacéutica, lo que podría perjudicar la liberación del principio activo,

aumentando el tiempo de disgregación, dificultad que no se dio en el caso que nos ocupa.

Una buena conservación de los alimentos es consecuencia de un bajo contenido en humedad (Sagar, 1995; Ortiz, 2008). Puede decirse que una humedad menor o igual al 10 %, hace inactivos ciertos microorganismos y enzimas, y asimismo, hace que se conserven las cualidades nutricionales y organolépticas del producto. Propiedades que se mantienen a lo largo del tiempo tanto en la mezcla de vegetales como en los dos granulados desarrollados, con valores de humedad sin diferencias después de tres meses.

En el caso de las pastillas masticables, el contenido en humedad aumenta notablemente, debido a los componentes de la formulación propiamente dicha, la pectina y la gelatina poseen una gran capacidad de captación de agua, provocando la formación de geles, y por tanto, dando lugar a este aumento en el contenido en humedad. Esta formulación es más susceptible a la contaminación microbiológica que el resto de formulaciones. Aun así, esto no supuso diferencias estadísticamente significativas con respecto a otras fórmulas con menor contenido en humedad, presentando al igual que el resto similar estabilidad frente a la contaminación microbiológica.

El control de la humedad inicial y su migración es crítico para la calidad e higiene del alimento. La industria desarrolla alimentos con unos contenidos en agua definidos para elaborar un producto con buenas condiciones higiénicas y óptima vida útil (Labuza y Hyman, 1998). Muchos de los procesos involucrados en el deterioro de los alimentos, como por ejemplo las reacciones de Maillard, consisten en deshidrataciones y rehidrataciones sucesivas de compuestos intermedios, por lo que el agua misma es uno de los reactivos. Probablemente la determinación de humedad puede ser el análisis más importante llevado a cabo en un producto alimentario y, sin embargo, puede ser el análisis del que es más difícil obtener resultados exactos y precisos (AOAC, 1980; Ranganna, 1977).

Para cuantificar si el agua es el único componente del vegetal que se pierde en cantidades importantes, se ha determinado la pérdida de peso que se va produciendo en las muestras a lo largo del período del ensayo; de esta manera, por comparación, se puede apreciar si las pérdidas de humedad coinciden con las pérdidas de peso y, en caso contrario, analizar los posibles factores que pudieran explicar el desfase.

Efectivamente los valores de evolución de humedad se corresponden con una pérdida de peso.

En general los valores obtenidos de (% P) para cada uno de los vegetales transcurridos 90 días a 40 °C son menores que los determinados a día 0, ya que en estas condiciones se evapora una gran cantidad de humedad presente en la muestra, disminuyendo, por tanto, su peso. En cambio cuando los vegetales se almacenan a temperaturas inferiores, la pérdida de peso se produce, aunque de orden mucho menor que en las muestras mantenidas en estufa.

Al estudiar la evolución de la humedad entre el día 0 y 90 tras la elaboración de las formulaciones, esta permanece prácticamente invariable durante todo el período en las muestras almacenadas a 4 y 25°C, aunque su valor se reduce a la mitad en polvos y pastillas masticables conservadas a 40 °C. Este hecho no se observa en los granulados ya que previamente a estos estudios se desecaron en estufas durante su obtención.

En cuanto a la pérdida de peso se produce una ligera disminución en los valores a lo largo del tiempo, siendo ésta igual en granulados y mucho mayor cuando las muestras de polvo o pastillas masticables se conservan a 40 °C. La mayor pendiente se produjo en las pastillas de goma seguida de la mezcla de vegetales en polvo (Tabla 18).



## **DETERMINACIÓN DEL pH**

### **Introducción.**

Tanto el pH del producto agroalimentario como el del medio con el que se realizan los distintos tratamientos previos a su procesado, conservación o consumo, tiene gran importancia en los procesos de deterioro que se producen a lo largo de la conservación.

El crecimiento microbiano en una forma de dosificación oral puede causar mal olor, turbidez y defectos en la palatabilidad y apariencia. Un elevado número de microorganismos puede ser peligroso para la salud, especialmente en pacientes muy jóvenes o inmunodeprimidos. Los subproductos del metabolismo microbiano puede causar un cambio en el pH de la preparación y reducir la estabilidad química o la solubilidad del fármaco. De ahí la importancia de su determinación.

### **Equipo.**

El equipo utilizado para la medida de pH de todas las muestras objeto de estudio fue un pH-metro del tipo CRISON GLP 21 (figura 67), consiste en un instrumento que mide la diferencia de potencial entre dos electrodos: un electrodo de referencia (generalmente de plata/cloruro de plata) y un electrodo de vidrio que es sensible al ión de hidrógeno.



**Figura 67.** pH-metro



### Resultados y discusión.

En la tabla 19 podemos observar los diferentes valores de pH obtenidos para las muestras estudiadas, tanto a tiempo cero como tras 90 días desde su elaboración, de tal manera que podemos ver si sufren cambios a lo largo del tiempo.

Tiempo (días)	Mezcla de polvos	Granulado sacaruro	Granulado efervescente	Pastillas masticables
pH medio (0 d.)	4.05 ± 0.05	4.18 ± 0.03	6.74 ± 0.02	4.16 ± 0.01
pH medio (90 d.)	4.09 ± 0.04	4.21 ± 0.05	6.78 ± 0.03	4.19 ± 0.01

**Tabla 19.** Valores de pH de las formulaciones estudiadas (mezcla de polvos, granulado sacaruro, granulado efervescente y pastillas masticables)

Todas las formulaciones desarrolladas poseen un valor similar de pH, siendo este ligeramente ácido, a excepción del granulado efervescente, con un valor próximo a la neutralidad, probablemente debido a la presencia de bicarbonato sódico en la formulación. Pese a ello, este incremento en el valor de pH no incidió de modo alguno en la estabilidad microbiológica del granulado, presentando óptimos valores de contaminación al igual que el resto de formulaciones. Es interesante también, tener en cuenta, los valores de pH constante en el tiempo lo que nuevamente corrobora la estabilidad en características organolépticas como el sabor y calidad microbiológica.

El pH es una medida a tener en cuenta con respecto a la calidad microbiológica y seguridad alimentaria de los alimentos (Lavelli y Scarafoni, 2012). Es importante controlar dicho parámetro, sustancial en términos de procesado, sabor y seguridad alimentaria. Un control inadecuado del pH puede provocar el desarrollo de bacterias no deseadas en el producto, lo que podría representar un riesgo para la salud.

Son muchos los estudios que muestran la relevancia y coherencia entre un cambio en el pH de algún alimento y una alteración física, química o microbiológica.

Prueba de ello son:

Fernandes y McLellan (1992) observaron una pequeña, pero apreciable, disminución de pH en muestras de compota de manzana almacenadas a 43°C que explicaron por procesos de desesterificación de la pectina.

El pH del producto también afecta en gran modo a la textura. Así, por ejemplo, Ben-Shalom et al. (1992) hallaron un máximo en el valor de la textura en zanahorias para pH=4,4 mientras que a pH superiores o inferiores la dureza disminuía de forma acentuada. Stanley et al. (1995), comparando diferentes pretratamientos, obtuvieron en judías verdes y zanahorias mejores resultados con respecto a la textura bajando el pH que añadiendo calcio.

Gerschenson et al. (1986) destacan los procesos para alcanzar una estabilidad microbiana en melocotones almacenados a temperatura ambiente. Estos procesos combinan la disminución de la actividad del agua mediante la incorporación de glucosa, la reducción del pH añadiendo ácido cítrico y la incorporación de sustancias antimicrobianas, como sorbato potásico y bisulfito sódico.

Aunque no existen datos sobre este u otros parámetros para una mezcla de vegetales deshidratados ni formas de dosificación como las de nuestro estudio, con los que poder discutir los datos obtenidos, diferentes autores destacan valores de pH próximos a 4 como garantía para la buena conservación de alimentos. Además de prevenir la proliferación de bacterias, la acidificación contribuye a mantener la calidad deseada de un producto (Boon y cols., 2009). En este sentido Kluter et al. (1994) evaluaron la vida útil de melocotones conservados a diferentes temperaturas y comprobaron la dependencia respecto al pH de parámetros sensoriales tales como color, textura, sabor, etc. En general, a las distintas temperaturas de almacenamiento, los diversos parámetros de calidad sufrían menores cambios cuando no se alteraba durante el procesado el pH inherente del producto (en este estudio, 3,8-3,9). Mas recientemente, Lavelli y Scarafoni, (2012) formularon pieles de tomate junto a un extracto de té verde con un pH de  $3.52 \pm 0.07$ , el cual fue muy oportuno para la seguridad microbiana (Lavelli y Scarafoni, 2012).



## **TIEMPO DE DISGREGACIÓN**

### **Introducción**

Para que la liberación de los deshidratados vegetales sea efectiva se requiere una fácil disgregación de la forma farmacéutica en el tracto gastrointestinal o en fluidos. Muchos investigadores consideran que la disgregación consiste en la ruptura de las uniones formadas durante la compresión, en nuestro caso durante la granulación y/o gelificación, tales como fuerzas de Van der Waals, uniones capilares, puentes de hidrógeno, etc, y cuyo objetivo es incrementar el área superficial de los fragmentos del mismo para conseguir una rápida liberación del o los activos.

Según RFE este ensayo esta destinado a determinar la mayor o menor aptitud de disgregación de una forma farmacéutica, en medio liquido, en el tiempo y en las condiciones experimentales prescritas. Consideramos que la disgregación está terminada cuando:

- a) no queda residuo sobre la rejilla, o
- b) si queda residuo, este esta constituido solamente por una masa blanda que no constituye un núcleo no impregnado palpable, o
- c) no permanecen sobre la rejilla más que fragmentos de recubrimiento o fragmentos de cubierta que pueden eventualmente adherirse a la cara inferior del disco en caso de utilización de este.

### **Equipo**

El equipo utilizado para la disgregación del granulado sacaruro es un aparato de disgregación del tipo ERWEKA GmbH (Heusenstamm/Alemania) (Figura 68) constituido por un conjunto rígido de cesta-soporte que aloja 6 tubos cilíndricos transparentes. En el caso de las pastillas masticables, al poseer un diámetro superior a 18 mm, usamos un dispositivo similar al anterior, con el mismo funcionamiento pero con la única diferencia de que solamente está formado por tres tubos cilíndricos transparentes. Estas especificaciones son similares tanto en la Farmacopea Europea como en la Farmacopea Japonesa y en la USP, donde las diferencias entre los distintos

dispositivos, radican únicamente en el tamaño de los vasos, los cestillos, los discos y las formas de dosificación a las que se les realiza la disgregación (Donauer y Löbenberg, 2007). Cada tubo tiene una longitud de  $77,5 \pm 2,5$  mm y un diámetro interno de 21,5 mm; la pared tiene un espesor de aproximadamente 2 mm. Cada uno de estos tubos está provisto de un disco cilíndrico (diámetro  $20,7 \pm 0,15$  mm, espesor  $9,5 \pm 0,15$  mm) de material plástico transparente de una densidad relativa de 1,18 a 1,20 o con un peso de  $3,0 \pm 0,2$  g. Cada disco está perforado por 5 orificios de 2 mm de diámetro: 1 orificio central y otros 4 equidistantes entre sí y dispuestos en un círculo de 6 mm de radio; la cara lateral del disco está provista de 4 muescas, equidistantes entre sí, de 9,5 mm de ancho por 2,55 mm de profundidad en la parte superior y de 1,6 mm por 1,6 mm en la parte inferior. Los tubos se mantienen verticales mediante 2 placas, separadas y superpuestas, de material plástico rígido, de 90 mm de diámetro y de 6 mm de espesor, atravesadas cada una por 6 orificios. Los orificios están equidistantes del centro de la placa e igualmente espaciados entre sí. Bajo la placa inferior está fijada una tela metálica de hilos de acero inoxidable de 0,635 mm de diámetro y con una abertura de malla de 2,00 mm. Las placas se mantienen en esta posición a una distancia de 77,5 mm por medio de varillas metálicas verticales situadas en la periferia. La placa superior lleva igualmente, fijada en su centro, una varilla metálica que permite conectar este conjunto a un dispositivo mecánico capaz de subirla y bajarla suavemente a una frecuencia constante entre 29 y 32 ciclos por minuto, una distancia de 50 mm a 60 mm.



**Figura 68.** Dispositivo de disgregación

El conjunto se suspende en el líquido indicado, preferentemente en un vaso de precipitado de 1 litro o en cualquier otro recipiente adecuado. El volumen de líquido que se vierte en el recipiente debe ser tal que, cuando el conjunto este en la posición mas elevada, la rejilla metálica se encuentre al menos 15 mm por debajo de la superficie del líquido, y cuando el conjunto este en la posición mas baja, la rejilla este al menos 25 mm por encima del fondo del vaso, manteniendo los extremos superiores de los tubos abiertos por encima de la superficie del líquido. Un dispositivo adecuado mantiene la temperatura del líquido a 35-39 °C.

### **Procedimiento**

Colocamos la muestra en cada uno de los seis tubos y situamos el conjunto en el vaso que contiene el líquido indicado. Ponemos en funcionamiento el aparato durante el tiempo indicado y posteriormente examinamos el estado de la muestra. El ensayo es satisfactorio si toda la muestra está disgregada.

Con el granulado sacaruro seguimos las indicaciones del ensayo de disgregación descrito en la RFE para comprimidos no recubiertos, para los cuales se utiliza agua destilada como medio. En cuanto a las pastillas masticables, nos basamos en las indicaciones de la farmacopea para cápsulas de gelatina. En nuestro caso, y, dadas las peculiaridades de los pacientes a los que van dirigidas estas formulaciones junto a las diferencias encontradas con distintos agentes gelificantes en función del medio de inmersión (Cole y cols., 2004), decidimos realizar también el ensayo a pH gástrico.

Añadir un disco a cada tubo y poner a funcionar el aparato durante 15 y 30 minutos para el granulado y la pastilla masticable respectivamente, salvo excepción justificada y autorizada, y examinar el estado de la muestra. El ensayo es satisfactorio si todas muestras se han disgregado.

En el caso del granulado efervescente el ensayo de disgregación es distinto pero también descrito en la RFE, colocamos la muestra correspondiente a una dosis en un vaso de precipitado que contenga 200 ml de agua destilada a 15-25°C, desprendiéndose numerosas burbujas de gas. Cuando ha cesado el desprendimiento de burbujas alrededor de los gránulos individuales, éstos se han disgregado, disolviéndose o dispersándose en el agua. Repetimos la operación otras 5 veces. Se satisface el ensayo si cada una de las 6

dosis utilizadas se disgrega en menos de 5 min en las condiciones indicadas, salvo excepción justificada y autorizada.

### **Resultados y discusión**

De acuerdo con la USP (United States Pharmacopeia) 30 y Farmacopea Europea 5.3 el ensayo de disgregación no es aplicable a formas de dosificación que van a ser masticadas. Wardrop y cols., 1997 (Wardrop y Ayres, 1997) estudiaron la disolución de diferentes formulaciones masticables tanto aplastadas como sin triturar antes de la prueba. Los autores afirmaron que el aplastamiento, como era de esperar, aumentó considerablemente la velocidad de disolución. Por tanto, el ensayo de disgregación también puede ser utilizado para el control de calidad de formas masticables.

Además los ensayos de disgregación de formas masticables son importantes ya que la forma de dosificación debe disgregarse antes, previa liberación del fármaco. Recordemos que las pastillas de goma están diseñadas para aumentar el cumplimiento entre las personas que no puedan tragar los tradicionales comprimidos. Sin embargo, el grado en que cada pastilla se mastica, puede variar de individuo a individuo, siendo completamente masticada o simplemente tragada en trozos. Es decir, no todos los pacientes masticarán el comprimido en igual grado, lo que indudablemente afectará la biodisponibilidad de los activos. Por este motivo y pese a que el estudio de disgregación no se exige para formas masticables (USP, 2007), diferentes autores se plantean la necesidad de tenerlo en cuenta (Siewert y cols., 2003; Donauer y Löbenberg, 2007). No obstante, todavía son necesarios más estudios con los que asegurar si las especificaciones de los aparatos de disgregación actuales son suficientes para la obtención de resultados fiables.

Así pues este, estudio se dispuso tanto para granulados como pastillas de goma (tablas 20, 21 y 22).

<b>Forma farmacéutica</b>	<b>Tiempo de disgregación (min) en agua destilada</b>	<b>Tiempo de disgregación (min) pH 1.2</b>
Pastilla masticable 1	13	11
Pastilla masticable 2	12.30	13
Pastilla masticable 3	15	15
Pastilla masticable 4	13	13
Pastilla masticable 5	15	13.30
Pastilla masticable 6	12	13

**Tabla 20.** Tiempo de disgregación de las pastillas masticables

<b>Forma farmacéutica</b>	<b>Tiempo de disgregación en agua destilada (min)</b>	<b>Tiempo de disgregación (min) pH 1.2</b>
Granulado sacaruro 1	3	3
Granulado sacaruro 2	3	3
Granulado sacaruro 3	3	3
Granulado sacaruro 4	3.30	3
Granulado sacaruro 5	3	3
Granulado sacaruro 6	3	3

**Tabla 21.** Tiempo de disgregación del granulado sacaruro.

Según los datos obtenidos, las pastillas masticables cumplen el ensayo de disgregación. De las seis muestras escogidas al azar, todas ellas se disgregan perfectamente dentro de los límites de tiempo definidos, completando su total disgregación entre 11 y 15 minutos.

Estos tiempos de disgregación, están de acuerdo con los de investigaciones en las que el perfil de liberación del fármaco desde formas masticables seguía dos perfiles, un efecto



burst en la primera etapa de liberación (primeros 15 minutos), probablemente debido a su fácil disgregación, seguido de una etapa de liberación constante (Stella y cols., 1995).

Por otro lado, el ensayo de disgregación es una prueba útil en formas de liberación inmediata como los granulados sacaruro de nuestro estudio.

Siguiendo las instrucciones de la Farmacopea, se deberían obtener resultados fiables y comparables. Sin embargo, no se ha incluido el ensayo sobre estas formas y, aun considerando las mismas condiciones de otras formas de dosificación, todavía se desconocen si las diferencias y cambios en el tiempo de ensayo entre la USP, la Farmacopea Europea y la Japonesa tienen algún impacto en el tiempo de disgregación.

Estos aspectos tienen que ser tenidos en cuenta a la hora de garantizar el cumplimiento de un producto en función de los requisitos de Farmacopea.

Por todo ello se decide realizar de nuevo el ensayo de granulados sacaruro según las recomendaciones de la Farmacopea Japonesa para estas formas de dosificación. Según la cual el granulado se agita sobre un tamiz con luz de maya de 500  $\mu\text{m}$ , 0.10 gramos del rechazo se coloca en cada uno de los 6 tubos. El ensayo se cumple si todas las muestras disgregan completamente tras 30 minutos.

Los tiempos resultantes para el ensayo de granulados sacaruro en base a ambas farmacopeas fueron óptimos y muy inferiores a los de las pastillas masticables. La velocidad de disgregación está condicionada por la fuerza aplicada durante la granulación, los enlaces formados y la porosidad del granulado.

Con respecto al granulado efervescente, los tiempos de disgregación quedan recogidos en la tabla 22 y fueron similares a los del granulado sacaruro.

<b>Forma farmacéutica</b>	<b>Tiempo de disgregación en agua destilada (min)</b>	<b>Tiempo de disgregación (min) pH 1.2</b>
Granulado efervescente 1	3	3
Granulado efervescente 2	3	3
Granulado efervescente 3	3	3
Granulado efervescente 4	4	3
Granulado efervescente 5	3	3
Granulado efervescente 6	3	3

**Tabla 22.** Tiempo de disgregación del granulado efervescente.

Este, cumple de manera satisfactoria con los tiempos descritos en la RFE para el ensayo de disgregación de granulados efervescentes, favoreciéndose así la velocidad de liberación de los principios activos, en nuestro caso, de los vegetales deshidratados.

En cualquier caso, las tres formulaciones ensayadas disgregan de manera adecuada, no representando un factor limitante de la disolución de los deshidratados vegetales. Tampoco se observaron diferentes tiempos de disgregación en función del medio de inmersión.



## **UNIFORMIDAD DE CONTENIDO**

### **Introducción.**

Según describe la RFE, el ensayo de uniformidad de contenido de las preparaciones unidosis está basado en el ensayo de los contenidos individuales del principio o los principios activos de un número de unidades unidosis, para determinar si los contenidos individuales están dentro de los límites establecidos con respecto al contenido medio de la muestra.

### **Procedimiento. (para cápsulas, polvos y granulados)**

Tomar una muestra al azar de 10 unidades de la preparación a examinar y emplear un método analítico adecuado para determinar los contenidos individuales del o de los principios activos.

La preparación satisface el ensayo cuando como máximo un contenido individual está fuera de los límites del 85% al 115% del contenido medio y ninguno queda fuera de los límites del 75% al 125% del contenido medio. La preparación no satisface el ensayo si más de tres de los contenidos individuales están fuera de los límites del 85% al 115% del contenido medio y si uno o más de los contenidos individuales están fuera de los límites del 75% al 125% del contenido medio.

### **Equipo.**

Para este análisis, la medida de la capacidad antioxidante como método para analizar la uniformidad de contenido de las muestras, se realizó en los mismos dispositivos definidos en el capítulo de capacidad antioxidante que veremos más adelante.

### **Resultados y discusión.**

Dada la complejidad y por tanto la dificultad en la identificación de todos y cada uno de los activos integrantes de los vegetales, para determinar la uniformidad de contenido de las muestras objeto de estudio se realizó la capacidad antioxidante medida mediante métodos analíticos, tales como, el método ABTS y el método FRAP, desarrollada en el capítulo de capacidad antioxidante que veremos más adelante.

Las determinaciones analíticas llevadas a cabo en este estudio se realizaron tomando muestras al azar de diferentes unidades de cada una de las formulaciones desarrolladas, siendo éstas, el polvo de deshidratados vegetales, los granulados sacaruro y efervescente y las pastillas masticables. Es importante mencionar que todas las determinaciones fueron realizadas por triplicado para demostrar la efectividad y validez del método.

En las tablas 23, 24, 25 y 26 que a continuación se exponen vemos reflejados estos valores de capacidad antioxidante presentados en las distintas muestras.

<b>Muestras</b>	<b>ABTS (%)</b>	<b>FRAP (%)</b>
<b>Polvo 1</b>	100.44 ± 0.02	99.99 ± 1.74
<b>Polvo 2</b>	98.52 ± 0.1	99.93 ± 1.01
<b>Polvo 3</b>	99.41 ± 0.01	99.99 ± 0.9
<b>Polvo 4</b>	101.18 ± 0.04	99.98 ± 0.8
<b>Polvo 5</b>	100.29 ± 0.03	99.98 ± 0.2
<b>Polvo 6</b>	98.37 ± 0.2	100.03 ± 0.9
<b>Polvo 7</b>	103.55 ± 0.01	100.08 ± 0.3
<b>Polvo 8</b>	96.15 ± 0.1	100.05 ± 0.6
<b>Polvo 9</b>	101.63 ± 0.02	99.98 ± 0.2
<b>Polvo 10</b>	100.44 ± 0.1	99.98 ± 0.4
<b>Polvo media</b>	0.675 ± 0.01 (100%)	133.689 ± 0.06 (100%)

**Tabla 23.** Datos de capacidad antioxidante, ABTS y FRAP, para el polvo de deshidratados vegetales.

Muestras	ABTS ( $\mu\text{moles eq. Trolox/g}$ )	FRAP ( $\mu\text{moles eq. Fe SO}_4/\text{g}$ )
<b>G. sacaruro 1</b>	104.41 $\pm$ 0.002	100.10 $\pm$ 0.2
<b>G. sacaruro 2</b>	103.04 $\pm$ 0.1	100.13 $\pm$ 0.1
<b>G. sacaruro 3</b>	99.09 $\pm$ 0.03	99.88 $\pm$ 0.02
<b>G. sacaruro 4</b>	100.61 $\pm$ 0.1	99.94 $\pm$ 0.1
<b>G. sacaruro 5</b>	94.68 $\pm$ 0.2	100.04 $\pm$ 0.2
<b>G. sacaruro 6</b>	104.10 $\pm$ 0.1	100.04 $\pm$ 0.3
<b>G. sacaruro 7</b>	101.67 $\pm$ 0.01	100.06 $\pm$ 0.1
<b>G. sacaruro 8</b>	94.07 $\pm$ 0.2	99.88 $\pm$ 0.03
<b>G. sacaruro 9</b>	96.35 $\pm$ 0.01	99.94 $\pm$ 0.01
<b>G. sacaruro 10</b>	102.58 $\pm$ 0.1	99.98 $\pm$ 0.1
<b>G. sacaruro media</b>	0.658 $\pm$ 0.02 (100%)	111.735 $\pm$ 0.09 (100%)

Tabla 24. Datos de capacidad antioxidante, ABTS y FRAP, para el Granulado sacaruro.

Muestras	ABTS ( $\mu\text{moles eq. Trolox/g}$ )	FRAP ( $\mu\text{moles eq. Fe SO}_4/\text{g}$ )
<b>G. efervescente 1</b>	96.59 $\pm$ 0.004	100.03 $\pm$ 0.6
<b>G. efervescente 2</b>	95.29 $\pm$ 0.1	100.08 $\pm$ 0.2
<b>G. efervescente 3</b>	101.61 $\pm$ 0.02	100.24 $\pm$ 0.1
<b>G. efervescente 4</b>	97.15 $\pm$ 0.1	99.84 $\pm$ 0.01
<b>G. efervescente 5</b>	98.51 $\pm$ 0.01	99.74 $\pm$ 0.01
<b>G. efervescente 6</b>	99.32 $\pm$ 0.2	100.42 $\pm$ 0.1
<b>G. efervescente 7</b>	100.56 $\pm$ 0.01	100.02 $\pm$ 0.03
<b>G. efervescente 8</b>	103.47 $\pm$ 0.1	99.85 $\pm$ 0.03
<b>G. efervescente 9</b>	102.17 $\pm$ 0.02	99.88 $\pm$ 0.04
<b>G. efervescente 10</b>	102.73 $\pm$ 0.01	99.89 $\pm$ 0.2
<b>G. efervescente media</b>	1.614 $\pm$ 0.04 (100%)	289.758 $\pm$ 0.6 (100%)

Tabla 25. Datos de capacidad antioxidante, ABTS y FRAP, para el Granulado efervescente.

<b>Muestras</b>	<b>ABTS (<math>\mu</math>moles eq. Trolox/g)</b>	<b>FRAP (<math>\mu</math>moles eq. Fe SO<sub>4</sub>/g)</b>
<b>Pastilla masticable 1</b>	98.86 $\pm$ 3.51	100.03 $\pm$ 2.16
<b>Pastilla masticable 2</b>	98.67 $\pm$ 1.3	99.96 $\pm$ 0.9
<b>Pastilla masticable 3</b>	104.94 $\pm$ 1.2	100.04 $\pm$ 0.8
<b>Pastilla masticable 4</b>	98.29 $\pm$ 0.7	100.01 $\pm$ 1.4
<b>Pastilla masticable 5</b>	99.62 $\pm$ 0.3	100.08 $\pm$ 1.9
<b>Pastilla masticable 6</b>	100.76 $\pm$ 0.8	99.95 $\pm$ 0.9
<b>Pastilla masticable 7</b>	98.48 $\pm$ 0.4	99.96 $\pm$ 0.3
<b>Pastilla masticable 8</b>	100.57 $\pm$ 0.3	99.96 $\pm$ 0.8
<b>Pastilla masticable 9</b>	99.24 $\pm$ 0.8	100.03 $\pm$ 2.1
<b>Pastilla masticable 10</b>	100.95 $\pm$ 0.3	99.97 $\pm$ 0.7
<b>Pastilla masticable <i>media</i></b>	0.526 $\pm$ 0.01 (100%)	106.542 $\pm$ 0.04 (100%)

**Tabla 26.** Datos de capacidad antioxidante, ABTS y FRAP, para las pastillas masticables.

Todas las formulaciones desarrolladas en este trabajo cumplen el ensayo de uniformidad de contenido según las indicaciones definidas por la RFE, ya que los datos obtenidos de capacidad antioxidante por ambos métodos, ABTS y FRAP, se mantienen dentro éstos límites, ninguna de las medidas, para todas las muestras estudiadas, está fuera de los límites del 85% al 115% del contenido medio.

Pese a que el estudio en cuestión se desvía del fundamento del ensayo recogido en la Real farmacopea Europea, los datos obtenidos nos informan sobre la homogeneidad de las muestras presentando todas ellas similares cualidades funcionales, durante su desarrollo, presentando similar contenido de principios activos dentro de cada una de las unidades desarrolladas.

## **UNIFORMIDAD DE MASA**

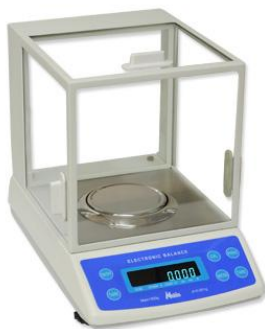
### **Introducción**

Se trata de un ensayo para comprobar la homogeneidad del preparado. De acuerdo con lo expuesto en la RFE los granulados en unidosis (excepto los granulados recubiertos) satisfacen el ensayo de uniformidad de masa de las preparaciones unidosis (2.9.5.).

La uniformidad de peso no siempre tiene por que suponer una uniformidad en el contenido de principio activo, especialmente cuando éste constituye una parte minoritaria de la formulación. Si se establece una buena correlación lineal entre el peso del comprimido y el contenido del fármaco en el caso de que el principio activo constituya aproximadamente el 90% de la formulación.

### **Equipo**

Para la determinación del ensayo de uniformidad de masa utilizamos únicamente una balanza de precisión del tipo AnD INSTRUMENT LTD. GR 202 (Figura 69), donde se van pesando una a una las muestras unidosis objeto de estudio.



**Figura 69.** Balanza de precisión

### **Procedimiento**

Se pesan individualmente 20 unidades escogidas al azar o, para las preparaciones unidosis presentadas en envases individuales, el contenido de 20 unidades y determinar la masa media. La masa individual de como máximo 2 de las 20 unidades puede desviarse de la masa media en un porcentaje más elevado que el indicado a continuación



(Tabla 27); pero la masa de ninguna unidad puede desviarse en más del doble de este porcentaje.

<b>Forma farmacéutica</b>	<b>Masa media</b>	<b>Desviación en porcentaje</b>
<b>Cápsulas, granulados (sin cubierta) y polvos (unidosis)</b>	Menos de 300 mg	10
<b>Cápsulas, granulados (sin cubierta) y polvos (unidosis)</b>	300 mg o más	7.5

**Tabla 27.** Masa media y desviación en porcentaje indicados en RFE para polvos

Las tablas 28, 29 y 30 detallan los pesos individuales de las 20 unidades de las cuatro formas de dosificación objeto de estudio. Puntualizar que los polvos fueron tomados con una misma medida y escogidos al azar desde un recipiente a granel. Pese a la inexactitud de la dosis, la desviación y las escasas propiedades de flujo que ya comentamos en capítulos anteriores se ha obtenido una desviación del 2.4%.

<b>Peso Mezcla de polvos (g)</b>	<b>Peso Mezcla de polvos (g)</b>
<b>P<sub>1</sub>: 8.65</b>	<b>P<sub>11</sub>: 8.20</b>
<b>P<sub>2</sub>: 8.22</b>	<b>P<sub>12</sub>: 8.31</b>
<b>P<sub>3</sub>: 8.38</b>	<b>P<sub>13</sub>: 8.19</b>
<b>P<sub>4</sub>: 8.09</b>	<b>P<sub>14</sub>: 8.28</b>
<b>P<sub>5</sub>: 8.21</b>	<b>P<sub>15</sub>: 8.40</b>
<b>P<sub>6</sub>: 8.58</b>	<b>P<sub>16</sub>: 8.21</b>
<b>P<sub>7</sub>: 8.42</b>	<b>P<sub>17</sub>: 8.84</b>
<b>P<sub>8</sub>: 8.21</b>	<b>P<sub>18</sub>: 8.39</b>
<b>P<sub>9</sub>: 8.30</b>	<b>P<sub>19</sub>: 8.19</b>
<b>P<sub>10</sub>: 8.72</b>	<b>P<sub>20</sub>: 8.45</b>
<b>P<sub>medio Mezcla de polvos</sub>: 8.36 ± 0.2</b>	

**Tabla 28.** Peso (g) de 20 unidosis de la mezcla de polvos

<b>Peso Granulado Sacaruro (g)</b>	<b>Peso Granulado Sacaruro (g)</b>
<b>P<sub>1</sub>: 4.31</b>	<b>P<sub>11</sub>: 4.42</b>
<b>P<sub>2</sub>: 4.40</b>	<b>P<sub>12</sub>: 4.37</b>
<b>P<sub>3</sub>: 4.36</b>	<b>P<sub>13</sub>: 4.66</b>
<b>P<sub>4</sub>: 4.41</b>	<b>P<sub>14</sub>: 4.36</b>
<b>P<sub>5</sub>: 4.53</b>	<b>P<sub>15</sub>: 4.56</b>
<b>P<sub>6</sub>: 4.43</b>	<b>P<sub>16</sub>: 4.51</b>
<b>P<sub>7</sub>: 4.54</b>	<b>P<sub>17</sub>: 4.53</b>
<b>P<sub>8</sub>: 4.20</b>	<b>P<sub>18</sub>: 4.34</b>
<b>P<sub>9</sub>: 4.49</b>	<b>P<sub>19</sub>: 4.65</b>
<b>P<sub>10</sub>: 4.48</b>	<b>P<sub>20</sub>: 4.44</b>
<b>P<sub>medio</sub> Granulado Sacaruro: 4.449 ± 0.1</b>	

**Tabla 29.** Peso (g) de 20 unidosis del granulado sacaruro

Peso Granulado Efervescente (g)	Peso Granulado Efervescente (g)
<b>P<sub>1</sub></b> : 4.07	<b>P<sub>11</sub></b> : 4.03
<b>P<sub>2</sub></b> : 4.35	<b>P<sub>12</sub></b> : 4.21
<b>P<sub>3</sub></b> : 4.15	<b>P<sub>13</sub></b> : 4.34
<b>P<sub>4</sub></b> : 4.01	<b>P<sub>14</sub></b> : 4.04
<b>P<sub>5</sub></b> : 4.37	<b>P<sub>15</sub></b> : 4.55
<b>P<sub>6</sub></b> : 4.02	<b>P<sub>16</sub></b> : 4.01
<b>P<sub>7</sub></b> : 4.66	<b>P<sub>17</sub></b> : 4.21
<b>P<sub>8</sub></b> : 4.06	<b>P<sub>18</sub></b> : 4.37
<b>P<sub>9</sub></b> : 4.08	<b>P<sub>19</sub></b> : 4.03
<b>P<sub>10</sub></b> : 4.55	<b>P<sub>20</sub></b> : 4.64
<b>P<sub>medio Granulado Efervescente</sub>: 4.237 ± 0.2</b>	

**Tabla 30.** Peso (g) de 20 unidosis del granulado efervescente

Ambos granulados cumplen el ensayo según la normativa expuesta en la RFE, ya que ninguno de ellos se desvía más del 7.5% de la media.

En cuanto a las pastillas de gomas cabía la posibilidad de incumplir el presente ensayo dado el modo de dosificación de la mezcla de gomas y azúcar en los moldes de silicona.

Aún así, observando los resultados obtenidos (Tabla 31), se cumple el análisis de uniformidad de masa para las pastillas masticables descrito en la RFE, ya que, aunque existan varios datos que sobrepasan el 7.5 % de la masa media de las 20 muestras, como es el caso de las muestras 6, 8, 9, 13, 14 y 17, ninguna de ellas se desvía más del doble de éste porcentaje.

<b>Peso Pastilla masticable (g)</b>	<b>Peso Pastilla masticable (g)</b>
<b>P<sub>1</sub>: 5.05</b>	<b>P<sub>11</sub>: 5.39</b>
<b>P<sub>2</sub>: 5.40</b>	<b>P<sub>12</sub>: 5.31</b>
<b>P<sub>3</sub>: 5.12</b>	<b>P<sub>13</sub>: 6.17</b>
<b>P<sub>4</sub>: 5.07</b>	<b>P<sub>14</sub>: 6.15</b>
<b>P<sub>5</sub>: 4.83</b>	<b>P<sub>15</sub>: 4.92</b>
<b>P<sub>6</sub>: 6.47</b>	<b>P<sub>16</sub>: 5.14</b>
<b>P<sub>7</sub>: 5.26</b>	<b>P<sub>17</sub>: 6.91</b>
<b>P<sub>8</sub>: 6.45</b>	<b>P<sub>18</sub>: 4.88</b>
<b>P<sub>9</sub>: 7.07</b>	<b>P<sub>19</sub>: 5.63</b>
<b>P<sub>10</sub>: 5.36</b>	<b>P<sub>20</sub>: 4.81</b>
<b>P<sub>medio</sub> Pastilla masticable: 5.57 ± 0.7</b>	

**Tabla 31.** Peso (g) de 20 unidades de pastillas masticables

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el ensayo de uniformidad de masa para la mezcla de vegetales, los granulados efervescente, sacaruro y para las pastillas masticables podemos decir que, todas las formulaciones desarrolladas cumplen el ensayo de uniformidad de masa, característica que confiere homogeneidad al producto.

## **ESTUDIO MICROBIOLÓGICO**

El estudio microbiológico se llevó a cabo mediante la preparación de los diferentes medios de cultivo que se autoclavaron (Autoclave RAYPA; Barcelona, España) (Figura 71), junto con todo el material de laboratorio necesario y posteriormente se realizaron los análisis en campana de flujo laminar (TELSTAR; Barcelona, España) (Figura 70). Una vez sembrada la muestra en los distintos medios de cultivo, según el parámetro a analizar, se utilizaron estufas de cultivo (SELECTA; Barcelona, España) (Figura 72) a diferentes temperaturas para la incubación de la misma.



**Figura 70.** Campana de flujo laminar



**Figura 71.** Autoclave



**Figura 72.** Estufas de cultivo

Según la legislación española, los parámetros microbiológicos a determinar para complementos alimenticios son:

### **RECuento DE AEROBIOS MESÓFILOS (RFE 2.6.12.)**

#### **Introducción:**

En el recuento de *microorganismos aerobios mesófilos* se estima la flora total pero sin especificar tipos de gérmenes. Esta determinación refleja la calidad sanitaria de los

productos analizados indicando, además de las condiciones higiénicas de la materia prima, la forma como fueron manipulados durante su elaboración.

Excepto en productos que se elaboran por fermentación, altos recuentos microbianos se consideran poco aconsejables para la mayor parte de los alimentos.

Su significado es diverso:

- Materia prima excesivamente contaminada.
- Deficientes métodos de manipulación durante la elaboración de los productos.
- La posibilidad, por tratarse de microorganismos mesófilos de que entre ellos pueda haber patógenos, dado que esta flora suele ser mesófila.
- Altos recuentos suelen ser signo de inmediata alteración del producto. Tasas superiores a  $10^6$ - $10^7$  gérmenes por gramo suelen ser ya inicio de descomposición.

Se utilizan para determinar el número de gérmenes por gramo o mililitro del alimento en estudio, partiendo de la “serie de diluciones decimales”, mediante el empleo de técnicas en placas de agar.

#### **Medio de cultivo:**

- **Agar nutritivo de recuento (Plata Count Agar. PCA).** Suministrado por Laboratorio Oxoid (Inglaterra). Disolver el medio en el agua por calentamiento. Ajustar el pH a 7. Distribuir en tubos o matraces y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

#### **Preparación de la muestra:**

Medir con una probeta 270 mL de agua de peptona y esterilizar en autoclave 15 min. a 121°C. Dejar enfriar y añadir en condiciones estériles 30g de muestra. Agitar vigorosamente 1min. La dilución así obtenida la denominaremos dilución madre (1/10), a partir de la cual se elaborarán una serie de diluciones decimales (1/100, 1/1000).

#### **Expresión de los resultados:**

El número total de colonias contadas en cada placa sembradas a una temperatura de  $31 \pm 1^\circ\text{C}$ , multiplicado por el factor de dilución de la placa elegida, da como resultado el recuento total de gérmenes por gramo o mililitro de la muestra analizada.

La norma microbiológica para Aerobios mesófilos en complementos alimenticios dice que serán aptos aquellos que presenten  $< 50000$  ufc (unidades formadoras de colonias)/g.

**RECUENTO DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS (RFE 2.6.13.)****Introducción:**

Este ensayo se utiliza:

- Cuando no interesa conocer exactamente el número de *Staphylococcus aureus* existente en el alimento.
- Cuando se sospecha que existe un número pequeño de estos gérmenes.
- Cuando se trata de gérmenes lesionados debido a que el producto ha sido sometido a técnicas industriales.

**Medios de Cultivo**

- **Caldo de enriquecimiento Giolitti Cantoni.** Suministrado por Laboratorio Oxoid (Inglaterra).

Disolver el medio por calentamiento y agitación hasta ebullición. Ajustar el pH a 6,9 ±0,2. Distribuir en tubos de 20 x 200 mm, a razón de 19 ml. Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 20 minutos. Enfriar rápidamente y añadir, a cada tubo, 0,3 ml de una solución de telurito potásico al 3,5 %, esterilizada por filtración.

- **Medio sólido selectivo Baird-Parker (BP).** Suministrado por Laboratorio Oxoid (Inglaterra).

Disolver el medio por calentamiento y agitación. Ajustar el pH a 6,9 ±0,2. Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 20 minutos. Enfriar a 50 °C y añadir 50 mL de emulsión estéril yema de huevo-telurito. Mezclar uniformemente y prepara placas de Petri.

**Preparación de la muestra:**

Medir con una probeta 99 mL de agua de peptona y esterilizar en autoclave 15 min. a 121 °C. Dejar enfriar y añadir en condiciones estériles 1g de muestra. Agitar vigorosamente 1 min. La dilución así obtenida la denominaremos dilución madre (1/10), a partir de la cual se elaborarán una serie de diluciones decimales (1/100, 1/1000).

**Expresión de los resultados:**

La presencia de *S. aureus* sembrado a una temperatura de 37°C se determina por la aparición de color negro en el medio ya que estos gérmenes originan la reducción del telurito a telurio provocando este cambio de color.



La norma microbiológica para *S. aureus* en complementos alimenticios dice que serán aptos aquellos tubos que presenten Ausencia/0.1g.

### **RECuento DE MOHOS Y LEVADURAS (RFE 2.6.12.)**

#### **Introducción:**

Pretender definir los *hongos* en términos sencillos no resulta fácil, debido a que en este término general se incluyen, a menudo, tanto hongos típicos como diversos organismos fúngicos inusuales. En general, se los conceptúa como vegetales pertenecientes al grupo de los *talofitas* y, por consiguiente, carentes de cormo, con una estructura que puede ser unicelular o pluricelular, y caracterizados por la falta absoluta de clorofila y por ser típicamente filamentosos.

Un elemento estructural que define a los hongos lo constituyen, precisamente, esos filamentos individuales formados por células alineadas en una sola serie, denominados *hifas*. Las células fúngicas están rodeadas por una pared que, a menudo aunque no siempre, contiene quitina como componente mayoritario. La hifa crece únicamente por su ápice (los hongos tienen crecimiento apical) y se ramifica periódicamente por detrás del ápice, dando como resultado una maraña de hifas que se denomina *micelio*.

Son organismos *eucarióticos*, *característicamente micelares*, *heterótrofos con nutrición por absorción*, con el riesgo que supone tratar de definir de forma simplificada un grupo de organismos tan complejo.

En cuanto a su clasificación taxonómica, la posición relativa de los hongos hacia otros organismos está sujeta a debate. Será suficiente decir que los hongos se han llegado a considerar tradicionalmente incluso como un subreino del Reino vegetal, si bien diversos autores aportan argumentos para incluirlos en un reino aparte, equivalente a las Plantas y a los Animales (Whittaker, 1969; Von Arx, 1981).

Las *levaduras* son hongos que crecen generalmente en forma de agregados sueltos de células independientes, que pueden ser globosas, ovoides, piriformes, alargadas o casi cilíndricas. En algunos casos, forman cadenas de células alargadas, adheridas de modo suelto, semejantes a un micelio, por lo que se las denomina sudomicelio. Algunas especies forman breves extensiones de verdadero micelio, con frecuencia ramificado. De acuerdo con lo expuesto, y según se ha comentado ya, no existe límite de separación definido entre levaduras y otros hongos que forman un micelio típico.

Las *levaduras*, cuando crecen sobre medios sólidos, forman colonias de aspecto característico que recuerdan a las colonias bacterianas. En casi todas las especies de interés industrial, el modo habitual de reproducción vegetativa es por gemación. Muchas de ellas presentan reproducción sexual por medio de ascosporas y, a diferencia de los mohos, las levaduras no pueden identificarse solamente por sus caracteres morfológicos; se precisa la ayuda de pruebas bioquímicas para la identificación específica.

El significado de la contaminación fúngica de los alimentos, especialmente por *mohos*, viene no sólo del potencial de los hongos para *deteriorarlos*, sino también del potencial de muchos de ellos para producir una gran variedad de micotoxinas a las que el hombre tiene susceptibilidad, así como su capacidad para provocar *infecciones* e, incluso, *reacciones alérgicas* en personas hipersensibles a los antígenos fúngicos.

**Medio de cultivo:**

- **Agar Sabouraud cloranfenicol.** Suministrado por Laboratorios Microkit (Madrid, España).

Suspender 65.5 g del polvo en 1L de agua destilada y llevar a ebullición. Distribuir en recipientes adecuados y esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 121 °C. No recalentar.

**Preparación de la muestra:**

El método utilizado será el mismo que para el recuento de aerobios mesófilos descrito en el apartado 2.5.1.3.

**Expresión de los resultados:**

El número total de colonias contadas en cada placa sembrada a una temperatura de 25-30°C, multiplicado por el factor de dilución de la placa elegida, da como resultado el recuento total de gérmenes por gramo o mililitro de la muestra analizada.

La norma microbiológica para Mohos y Levaduras en complementos alimenticios dice que serán aptos aquellos que presenten < 300 ufc/g.

**RECUENTO DE COLIFORMES TOTALES (RFE 2.6.13.)****Introducción:**

Las *Enterobacteriaceae* lactosa-positivas o grupo *coli-aerogenes* constituyen un grupo de bacterias que se definen más por las pruebas usadas para su aislamiento que por criterios taxonómicos. Pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* y se caracterizan por su capacidad para fermentar la lactosa con producción de ácido y gas, más o menos rápidamente, en un periodo de 48 horas y con una temperatura de incubación comprendida entre 30-37 °C.

Son bacilos gramnegativos, aerobios y anaerobios facultativos, no esporulados. Del grupo “coliformes” forman parte varios géneros:

- *Escherichia*
- *Enterobacter*.
- *Klebsiella*.
- *Citrobacter*.

Se encuentran en el intestino del hombre y de los animales, pero también en otros ambientes: suelo, plantas, cáscara de huevo, etc.

Aunque su especificidad como indicadores no es buena, se suelen usar como índice de contaminación fecal por:

- Su frecuencia en heces.
- Su fácil detección en el laboratorio.
- Sus características semejantes, en algún aspecto, a las de algunos miembros patógenos de la familia *Enterobacteriaceae*.

Dentro de este grupo, son los *coliformes fecales* los que tienen significado sanitario y, por consiguiente, los que más interesan en el análisis microbiológico de alimentos.

Se considera a los *coliformes fecales* como presuntos *Escherichia coli*. Sus principales características son:

- Aptitud para desarrollarse entre 43,5-45,5 °C.
- Capacidad para crecer en presencia de sales biliares.
- Facultad para producir indol en agua de peptona.

En general, niveles altos de *Enterobacteriaceae* lactosa-positivas (coliformes) indican manipulación y elaboración deficientes de alimentos.

Para la detección de *Enterobacteriaceae* lactosa-positivas (coliformes), se aprovechan ciertas características que las diferencian de otras *Enterobacteriaceae* como; por ejemplo, su capacidad para fermentar la lactosa con producción de ácido y gas en presencia de sales biliares.

#### **Medio de cultivo:**

##### **- Caldo lactosado biliado verde brillante (Brilliant Green Bile Lactose: BGBL).**

Suministrado por Laboratorio Oxoid (Inglaterra).

Disolver el medio. Ajustar el pH a 7.4. Distribuir en tubos de ensayo con campana Durham a razón de 10 ml. Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 20 minutos.

#### **Preparación de la muestra:**

El método utilizado será el mismo que para determinación de *S. aureus* descrito en el apartado 2.5.2.3.

#### **Expresión de los resultados:**

La reacción es positiva cuando se produce desprendimiento de gas en la campana Durham, por lo menos en 1/10 parte de su volumen, como consecuencia de la fermentación de la lactosa con formación de ácido y gas en presencia de sales biliares a una temperatura comprendida entre 30±1 °C. Además puede verse el medio un poco turbio.

La norma microbiológica para Coliformes totales en complementos alimenticios dice que serán aptos aquellos que presenten Ausencia/0.1g.

### **RECuento DE ESCHERICHIA COLI (RFE 2.6.13.)**

#### **Introducción:**

*Escherichia coli* es huésped constante del intestino del hombre y de los animales de sangre caliente. Su detección en los alimentos sirve como índice de contaminación fecal de los mismos. La mayor parte de las cepas son inocuas, pero existen algunas que son patógenas para el hombre.

Tiene el inconveniente de vivir poco tiempo en el ambiente extraentérico, por lo que su presencia en los alimentos indica contaminación reciente.

Se destruye a temperatura de pasteurización y también durante su almacenamiento en frío, sobre todo a temperatura de congelación.

Su escasa resistencia hace que no sea un buen indicador de flora patógena; así, por ejemplo, es mucho menos resistente que la *Salmonella* a las condiciones ambientales y a la acción del frío.

Pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Es un germen de forma bacilar, casi siempre móvil, gramnegativo. Posee estructura antigénica.

La mayoría de las bacterias pertenecientes a la especie *E. coli*, forman parte de la microflora normal del intestino del hombre y de los animales de sangre caliente, encontrándose, habitualmente, en sus heces.

#### **Medios de cultivo:**

##### **- Caldo lactosado biliado verde brillante (Brilliant Green Bile Lactose: BGBL).**

Suministrado por Laboratorio Oxoid (Inglaterra).

Disolver el medio. Ajustar el pH a 7.4. Distribuir en tubos de ensayo con campana Durham a razón de 10 ml. Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 20 minutos.

##### **- Agar Levine.** Suministrado por Laboratorio Oxoid (Inglaterra).

Disolver el medio por calentamiento. Ajustar el pH a 7,1. Distribuir y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Atemperar para preparar placas de Petri.

##### **- Agua de triptona (Tryptone Water: TW).** Suministrado por Laboratorio Oxoid (Inglaterra).

Mezclar y disolver el medio en el agua. Ajustar el pH a 7.2. Distribuir en tubos de ensayo de 16 x 160 mm, a razón de 9 ml. Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

##### **- Reactivo de Kovacs.** Suministrado por Laboratorio Oxoid (Inglaterra).

Se disuelve el aldehído en el alcohol, calentado a 60 °C en baño María. Dejar enfriar y añadir, gota a gota, el ácido. Se obtiene un líquido de color amarillo dorado que debe conservarse en frasco tapado, al abrigo de la luz y en frigorífico.

#### **Preparación de la muestra:**

El procedimiento seguido será el mismo que el descrito en el apartado 2.5.2.3.

**Expresión de los resultados:**

La reacción es positiva cuando se produce desprendimiento de gas en la campana Durham, por lo menos en 1/10 parte de su volumen, como consecuencia de la fermentación de la lactosa con formación de ácido y gas en presencia de sales biliares a una temperatura de 44 °C.

La norma microbiológica para *E. coli* en complementos alimenticios dice que serán aptos aquellos que presenten Ausencia/0.1g.

**RECuento DE SALMONELLA (RFE 2.6.13.)****Introducción:**

Salmonella es un género bacteriano, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae integrado por gérmenes de forma bacilar, no esporulados, habitualmente móviles mediante flagelos peritricos, aunque existen mutantes inmóviles. El serotipo Salmonella pullorum-gallinarum es siempre inmóvil.

Gramnegativos, aerobios-anaerobios facultativos, fermentan la glucosa con producción de gas. No fermentan la lactosa. Reducen nitratos a nitritos. Son citocromo-oxidasa negativos.

Forman colonias típicas sobre medios de cultivo sólidos y poseen características bioquímicas y sexológicas determinadas.

**Medios de cultivo:**

- **Agua de peptona tamponada (Buffer Peptone Water: BPW)**. Suministrado por Laboratorios AES (Francia).

Disolver el medio por calentamiento. Ajusta a pH  $7 \pm 0.1$ . Distribuir en matraces Erlenmeyer de 500 mL a razón de 270 mL. Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 20 minutos.

- **Caldo Rappaport-Vassiliadis-peptona de soja (RVS)**. Suministrado por Laboratorio Oxoid (Inglaterra).

Disolver el medio, ajustar el pH a  $5.2 \pm 0.2$ . Distribuirlo a razón de 10 mL en tubos con tapón de rosca. Esterilizar en autoclave a 115 °C durante 15 minutos.

- **Agar Hektoen (Hektoen Enteric: HE)**. Suministrado por Laboratorio Oxoid (Inglaterra).

Disolver el medio por calentamiento y agitación hasta ebullición, dejando hervir durante 1 minuto, como máximo. Ajustar el pH a  $7.6 \pm 0.2$ . Preparar placas de Petri. El medio se debe utilizar el mismo día de su preparación.

- **Agar de aislamiento diferencial selectivo, agar verde brillante-rojo fenol (Brillant Green Agar: BGA)**. Suministrado por Laboratorio Oxoid (Inglaterra).

Disolver el medio por calentamiento. Ajustar el pH a  $7 \pm 0,2$ . Esterilizar en autoclave a  $121 \text{ }^\circ\text{C}$ .

#### **Preparación de la muestra:**

Medir con una probeta 270 ml de agua de peptona y esterilizar en autoclave 15 min. a  $121 \text{ }^\circ\text{C}$ . Dejar enfriar y añadir en condiciones estériles 30g de muestra. Agitar vigorosamente 1min.

#### **Expresión de los resultados:**

El recuento de este parámetro microbiológico se hace en placa, sembrada a una temperatura de  $37^\circ\text{C}$ .

Las colonias crecidas sobre Agar Hektoen son verde azuladas, con centro negro o sin él.

Las colonias de Salmonella crecidas sobre agar BGA son de color rosado, transparente, rodeadas de un halo rojo, al no fermentar la lactosa. Las bacterias fermentadoras de la lactosa forman colonias amarillo-verdosas al virar el rojo fenol del medio por producción de ácido.

La norma microbiológica para Salmonella en complementos alimenticios dice que serán aptos aquellos que presenten Ausencia/30g.

#### **Resultados y discusión.**

El Código Alimentario Español, aprobado por el Real Decreto R.D. 2484/1967, del 21 de Septiembre, engloba a los deshidratados vegetales en el grupo de las hortalizas, considerándose estas, como cualquier planta herbácea hortícola en sazón para que se pueda utilizar como alimento, ya sea cruda o cocinada. Las verduras se consideran un grupo de hortalizas en las que la parte comestible está constituida por sus órganos verdes (Pascual-Anderson, 1999).

La tabla 32 recoge los parámetros microbiológicos a analizar para este tipo de productos, así como los valores descritos como norma microbiológica para el control de

la contaminación microbiana en productos de administración oral no obligatoriamente estériles, que son administrados como tal o bien siendo diluidos en zumos, comida, etc. (R.F.E. 2.6.12., 2.6.13.)

<b>Parámetros microbiológicos</b>	<b>Norma microbiológica (suplementos nutricionales)</b>
Aerobios mesófilos	< 50.000 ufc/g
Mohos y Levaduras	<300 ufc/g
Coliformes totales	Ausencia/0.1g
E. coli	Ausencia/0.1g
S. aureus	Ausencia/0.1g
Salmonella	Ausencia/30g

**Tabla 32.** Norma microbiológica.

Al comparar los datos obtenidos con los límites de la legislación vigente podemos asegurar que la fórmula de vegetales seleccionada cumple las normas microbiológicas para hortalizas y verduras deshidratadas (Real Decreto R.D. 1094/1987 de 26 de Junio, actualizado por en Reglamento CE 1881/2006. DOUE 20.12.2006) justificando por tanto el adecuado tratamiento y manipulación de los vegetales hasta la obtención del polvo deshidratado.

Estos vegetales deshidratados han sido utilizados como principios activos para la elaboración de varias formas farmacéuticas, tales como granulado sacaruro, efervescente y pastillas masticables, destinadas a su administración oral, mezcladas con los alimentos o no, como aporte de vitaminas y minerales. En las tablas 33-36, que a continuación se exponen, recopilamos todos los datos obtenidos con respecto a los análisis microbiológicos realizados a distintos tiempos (0, 30, 60 y 90 días) y temperaturas (4, 25 y 40°C), tanto de la mezcla de vegetales de la que partimos, así como de las otras formas farmacéuticas desarrolladas, tales como el granulado sacaruro, granulado efervescente y las pastillas masticables.

Durante la fabricación, envasado, conservación y distribución de éstas formas farmacéuticas se toman las medidas necesarias para asegurar su calidad microbiológica, medidas que vienen descritas en la RFE (5.1.4.)



<b>RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS POLVOS</b>					
<b>Parámetros</b>	<b>T<sup>a</sup></b>	<b>0 Días</b>	<b>30 Días</b>	<b>60 Días</b>	<b>90 Días</b>
<b>Aerobios mesófilos</b>	<b>4°</b>	-	30.500	35.000	39.800
	<b>25°</b>	22.610	39.000	41.281	45.000
	<b>40°</b>	-	40.100	41.230	46.750
<b>Mohos y Levaduras</b>	<b>4°</b>	0 ufc	0 ufc	0 ufc	0 ufc
	<b>25°</b>	0 ufc	0 ufc	0 ufc	0 ufc
	<b>40°</b>	0 ufc	0 ufc	0 ufc	0 ufc
<b>Coliformes totales</b>	<b>4°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>25°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>40°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<b>E. coli</b>	<b>4°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>25°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>40°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<b>S. aureus</b>	<b>4°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>25°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>40°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<b>Salmonella</b>	<b>4°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>25°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>40°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

**Tabla 33.** Valores microbiológicos para los deshidratados vegetales a diferentes temperaturas durante el tiempo de estudio

<b>RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS GRANULADO SACARURO</b>					
<b>Parámetros</b>	<b>T<sup>a</sup></b>	<b>0 Días</b>	<b>30 Días</b>	<b>60 Días</b>	<b>90 Días</b>
<b>Aerobios mesófilos</b>	<b>4°</b>	-	26.745	30.856	38.116
	<b>25°</b>	25.110	34.112	39.654	43.013
	<b>40°</b>	-	38.254	43.852	47.040
<b>Mohos y Levaduras</b>	<b>4°</b>	0 ufc	0 ufc	0 ufc	0 ufc
	<b>25°</b>	0 ufc	0 ufc	0 ufc	0 ufc
	<b>40°</b>	0 ufc	0 ufc	0 ufc	0 ufc
<b>Coliformes totales</b>	<b>4°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>25°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>40°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<b>E. coli</b>	<b>4°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>25°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>40°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<b>S. aureus</b>	<b>4°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>25°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>40°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<b>Salmonella</b>	<b>4°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>25°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>40°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

**Tabla 34.** Valores microbiológicos para el granulado sacaruro a diferentes temperaturas durante el tiempo de estudio

<b>RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS GRANULADO EFERVESCENTE</b>					
<b>Parámetros</b>	<b>T<sup>a</sup></b>	<b>0 Días</b>	<b>30 Días</b>	<b>60 Días</b>	<b>90 Días</b>
<b>Aerobios mesófilos</b>	<b>4°</b>	-	22.630	28.022	33.111
	<b>25°</b>	20.180	29.751	32.800	35.713
	<b>40°</b>	-	31.500	34.687	39.400
<b>Mohos y Levaduras</b>	<b>4°</b>	0 ufc	0 ufc	0 ufc	0 ufc
	<b>25°</b>	0 ufc	0 ufc	0 ufc	0 ufc
	<b>40°</b>	0 ufc	0 ufc	0 ufc	0 ufc
<b>Coliformes totales</b>	<b>4°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>25°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>40°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<b>E. coli</b>	<b>4°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>25°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>40°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<b>S. aureus</b>	<b>4°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>25°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>40°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<b>Salmonella</b>	<b>4°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>25°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>40°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

**Tabla 35.** Valores microbiológicos para el granulado efervescente a diferentes temperaturas durante el tiempo de estudio

<b>RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS GOMINOLAS</b>					
<b>Parámetros</b>	<b>T<sup>a</sup></b>	<b>0 Días</b>	<b>30 Días</b>	<b>60 Días</b>	<b>90 Días</b>
<b>Aerobios mesófilos</b>	<b>4°</b>	-	31.852	38.755	40.920
	<b>25°</b>	20.354	34.415	40.644	46.810
	<b>40°</b>	-	36.008	43.330	49.783
<b>Mohos y Levaduras</b>	<b>4°</b>	0 ufc	0 ufc	0 ufc	0 ufc
	<b>25°</b>	0 ufc	0 ufc	0 ufc	0 ufc
	<b>40°</b>	0 ufc	0 ufc	0 ufc	0 ufc
<b>Coliformes totales</b>	<b>4°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>25°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>40°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<b>E. coli</b>	<b>4°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>25°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>40°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<b>S. aureus</b>	<b>4°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>25°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>40°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<b>Salmonella</b>	<b>4°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>25°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	<b>40°</b>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

**Tabla 36.** Valores microbiológicos para las pastillas masticables a diferentes temperaturas durante el tiempo de estudio

De todas las pruebas microbiológicas llevadas a cabo sólo se encontraron aerobios mesófilos.

Todas las formulaciones aportaron valores de aerobios mesófilos inferiores a 50000 unidades formadoras de colonias. Cabe destacar la influencia de la temperatura sobre el recuento de microorganismos. Este dato obtuvo su máximo valor cuando las muestras fueron almacenadas a 40 °C, presentando valores muy próximos a 50000 ufc en todas las fórmulas conservadas a elevadas temperaturas tras tres meses desde su elaboración.

Como era de esperar la fórmula en la que se hallaron mayor número de mesófilos fueron las pastillas de goma, muestras que paralelamente presentaban el mayor contenido en humedad, el cual superaba el 20 %. A este respecto, varios estudios han informado de

un mayor crecimiento de colonias microbianas en alimentos que presentaban altos valores de humedad durante su almacenamiento (Regez y cols., 1987; Wickham y Wilson, 1988; Aidoo y cols., 2010).

Los microorganismos aerobios mesófilos reflejan la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación así como las condiciones higiénicas de la materia prima. Este recuento estima la microflora total, sin especificar tipos de microorganismos, se incluyen todas las bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse a 30° en las condiciones establecidas. Pese a que en el recuento de los aerobios mesófilos, observamos su presencia en todas las muestras analizadas, esto no indica la existencia de flora patógena en las muestras. De hecho tiene un valor limitado como indicador de la presencia de patógenos o sus toxinas. Un recuento total de aerobios mesófilos bajo no asegura que un alimento esté exento de patógenos o sus toxinas; tampoco un recuento total alto significa, inevitablemente, presencia de flora patógena. En este sentido, si observamos las tablas 33-36, en todas las formas farmacéuticas desarrolladas apreciamos la ausencia de microorganismos patógenos como mohos y levaduras, coliformes totales, E. coli, S. aureus y Salmonella.

Teniendo en cuenta los valores obtenidos en el ensayo microbiológico realizado a todas las muestras tomadas al azar de las distintas formas farmacéuticas, que podemos ver en la tablas 33-36, y, comparándolas con los valores reflejados en la tabla 32, donde se muestra la norma microbiológica a seguir para este tipo de preparados, podemos decir que se cumplen todos los controles de calidad en cuanto a normas microbiológicas se refiere, pudiendo ser consideradas aptas para su consumo oral.

## ESTUDIO NUTRICIONAL

### **DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS POR EL MÉTODO KJELDHAL.**

Este método está basado en un método oficial de la AOAC (Scientific Association in Analytical Methods).

#### **Introducción.**

La materia orgánica es digerida por la acción del ácido sulfúrico concentrado, convirtiéndose en dióxido de carbono y agua; además reduce el nitrógeno a amonio, el cual pasa a ser fijado por el ácido como sulfato de amonio, una sal de gran estabilidad. La reducción del material nitrogenado hasta amonio, se debe a que parte del  $H_2SO_4$  es simultáneamente reducido a  $SO_2$ , que se comporta como un fuerte reductor.

La digestión de la muestra se acelera mediante la adición de catalizadores como el mercurio metálico, el óxido rojo de mercurio ( $HgO$ ), el sulfato cúprico ( $CuSO_4$ ), el selenio, el permanganato de potasio ( $KmO_4$ ) o una mezcla de estos.

Cuando la totalidad de la materia orgánica ha sido digerida, se libera el amoníaco por descomposición del sulfato de amonio con un álcali fuerte ( $NaOH$ ) y luego el  $NH_3$  se separa por destilación y recolección en un volumen de ácido bórico, como borato de amonio. El amonio se determina por titulación con solución valorada de ácido clorhídrico ( $HCl$ ) 0,02 N en presencia de un indicador mixto compuesto por una mezcla de rojo de metilo y azul de metileno, el cual en medio ácido se presenta de color morado y en medio alcalino de color verde.

El contenido de proteínas es el contenido de Nitrógeno expresado en porcentaje en peso y multiplicado por un factor de conversión, que en este caso, para verduras y hortalizas es 6.25, ya que las proteínas contienen, aproximadamente un 16% de nitrógeno, por lo tanto, si se determina el porcentaje total del mismo, puede establecerse según un factor de conversión apropiado ( $100/16 = 6,25$ ).

Resumen de las reacciones químicas en el método Micro-Kjeldahl

**Digestión:**  $Materia\ Orgánica + H_2SO_4 \rightarrow CO_2 + H_2O + SO_2 + (NH_4)_2SO_4$

**Destilación:**  $(NH_4)_2SO_4 + NaOH \rightarrow Na_2SO_4 + 2NH_3 + 2H_2O$

**Recolección:**  $NH_3 + H_3BO_3 \rightarrow NH_4H_2BO_3$

**Titulación:**  $NH_4H_2BO_3 + HCl \rightarrow NH_4Cl + H_3BO_3$

Se acostumbra a hacer determinaciones en blanco para corregir cualquier impureza en los reactivos.

### Equipos y reactivos.

- **Equipos específicos:** Digestor-destilador Kjeldahl (SELECTA; Barcelona, España) (Figuras 73 y 74), Campana extractora (BURDINOLA; Bilbao, España).



Figura 73. Destilador Kjeldahl



Figura 74. Digestor Kjeldahl

- **Equipos/instrumental general de laboratorio:** Balanza de precisión (SARTORIUS; Goettingen, Germany), Tubos Kjeldahl y Dosificador del ácido sulfúrico.

### - Reactivos:

- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 96% suministrado por Panreac (Barcelona, España)
- Agua destilada
- Hidróxido sódico (NaOH) 45% p/v, suministrado por Panreac (Barcelona, España)
- Ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) 4%, suministrado por Panreac (Barcelona, España)
- Solución indicadora (2 partes de rojo de metilo al 0,2% + 1 parte de azul de metileno al 0,2%, ambas en solución alcohólica).

### Expresión de los resultados.

El contenido proteico de la muestra se calcula aplicando la siguiente fórmula:

$$\% N = (1.4 \times 0.25 \times V_{HCl}) / P_1$$

Tras calcular el porcentaje de nitrógeno, es necesario calcular el porcentaje de proteínas basándose en este valor y utilizando entonces la siguiente ecuación;

$$\% P = \% N \times 6.25$$

Donde:

$V$  = mL de HCl gastados en la titulación.

$P_1$  = gramos de muestra.

$P$  = proteína total.

### **DETERMINACIÓN DE GRASA POR EL MÉTODO SOXLEHT.**

Este método está basado en un método oficial de la AOAC (Scientific Association in Analytical Methods).

#### **Introducción.**

El objetivo del presente método es la cuantificación del contenido en grasa total de verduras, hortalizas y frutas deshidratadas. En caso de que se trate de esos mismos productos, pero en estado fresco, se procederá a la desecación en estufa a 60 – 70°C y posterior trituración.

El contenido en grasa bruta de un producto se define convencionalmente como la parte del mismo extraíble por éter etílico en condiciones determinadas. Incluye, además de la grasa, otras muchas sustancias solubles en éter etílico, como son: ceras, pigmentos, vitaminas, etc.

#### **Equipos y reactivos.**

- **Equipos específicos:** Extractor Soxhlet (SELECTA; Barcelona, España) (Figura 75).



**Figura 75.** Extractor Soxhlet

- **Equipos/ instrumental general de laboratorio:**

- Balanza analítica con precisión de 0,1 mg.

- Estufa de desecación, graduada a 100°C.



- Desecador con placa de porcelana o metálica perforada, conteniendo un agente deshidratante, como anhídrido fosfórico o silicagel.
  - Cartuchos de extracción y vasos de aluminio.
  - Pesa sustancias.
- **Reactivos:** Eter dietílico/éter de petróleo, suministrado por Panreac (Barcelona, España).

### **Expresión de los resultados.**

El contenido en materia grasa sobre la sustancia seca, se obtiene mediante la siguiente expresión:

$$\% G = ((P1 - P2) / P) \times 100$$

Siendo:

P<sub>1</sub> = Peso en g del vaso con el extracto etéreo.

P<sub>2</sub> = Peso en g del vaso vacío.

P = Peso en g de la muestra empleada.

### **DETERMINACIÓN DE FIBRA DIETÉTICA TOTAL (TDF) POR EL MÉTODO ENZIMÁTICO.**

Este método está basado en un método oficial de la AOAC (Scientific Association in Analytical Methods).

#### **Introducción.**

El objeto de este procedimiento normalizado técnico es guiar y describir los puntos mínimos a seguir para la determinación de la fibra bruta, mediante separación del resto de componentes por disgregación hidrolítica y filtración.

La muestra se gelatiniza con  $\alpha$ -amilasa termoestable y se digiere enzimáticamente con proteasa y amiloglucosidasa para eliminar proteínas y almidones.

Posteriormente se añade alcohol etílico para precipitar la fibra dietética soluble. El residuo total se filtra y lava con alcohol etílico del 78%, alcohol etílico del 95% y acetona.

Después de secado, el residuo se pesa y en uno de los duplicados se determinan proteínas y en el otro se incinera a 525° y se determinan cenizas.

$$\text{TDF} = \text{peso del residuo} - \text{peso (proteínas + cenizas)}$$

**Equipos y reactivos.****- Equipos específicos:**

- Crisoles o embudos con placa filtrante, porosidad n°2. Preparación: limpiado mediante calentamiento en mufla a 525°C/1h y enjuagado con agua. Añadir aproximadamente 0.5 g de celite a 130°C hasta peso constante >- 1 h. Enfriar y almacenar en desecador hasta su uso.

**- Equipos generales de laboratorio:**

- Estufa
- Desecador
- Horno de mufla
- Baños de agua
- Balanza
- Vaso de precipitado
- Ph-metro

**- Reactivos:**

- Etanol de 95%, suministrado por Panreac (Barcelona, España)
- Etanol de 78%, suministrado por Panreac (Barcelona, España)
- Acetona, suministrado por Panreac (Barcelona, España)
- Tampón fosfato 0.08 M. pH 6.0, suministrado por Panreac (Barcelona, España)
- $\alpha$ -amilasa termoestable, suministrado por Sigma Aldrich (Madrid, España)
- Proteasa, suministrado por Sigma Aldrich (Madrid, España)
- Amiloglucosidasa, suministrado por Sigma Aldrich (Madrid, España)
- Hidróxido sódico 0.275 N, suministrado por Panreac (Barcelona, España)
- Ácido clorhídrico 0.325 N, suministrado por Panreac (Barcelona, España)
- Celite lavado al ácido, suministrado por Sigma Aldrich (Madrid, España)

**Expresión de los resultados.**

$$\text{TDF\%} = (\text{PR-PF-CF} / \text{P muestra}) \times 100$$

### **DETERMINACIÓN DE CENIZAS POR INCINERACIÓN.**

Este método está basado en un método oficial de la AOAC (Scientific Association in Analytical Methods).

#### **Introducción.**

El contenido en cenizas de un alimento se define como el producto resultante de la incineración de la muestra a una temperatura de 520 a 550 °C hasta que no queda materia carbonosa, observable por la presencia en la muestra incinerada de puntos o zonas oscuras o negras.

#### **Equipos y reactivos.**

##### **- Equipos específicos:**

- Horno Mufla (SELECTA; Barcelona, España) (Figura 76) que alcance una temperatura de al menos 550 °C



**Figura 76.** Horno Mufla

##### **- Equipos/ instrumental general de laboratorio:**

- Cápsula o Crisol de porcelana.
- Balanza de precisión.
- Desecador.
- Placa calefactora o quemador Bunsen.

#### **Expresión de los resultados.**

Las siguientes fórmulas muestran los parámetros a aplicar para conocer el porcentaje de cenizas en g/100 g de muestra.

$$\%C = (M-m / P) \times 100$$

M = Peso de la cápsula de porcelana y de las cenizas después de la incineración y posterior enfriamiento, en g.

m = Peso de la cápsula de porcelana vacía, en g.

P = Peso de la muestra, en g.

### **DETERMINACIÓN DE HIDRATOS DE CARBONO POR EL MÉTODO DIFERENCIAL.**

Este método está basado en un método oficial de la AOAC (Scientific Association in Analytical Methods).

#### **Introducción.**

El ensayo pretende calcular de manera cuantitativa el contenido total de azúcares de la muestra en cuestión, obtenido por diferencia entre la totalidad de la muestra y los resultados calculados en los apartados anteriores sobre el valor nutricional.

#### **Equipos y reactivos.**

Ver equipos y reactivos de los apartados 2.6.1., 2.6.2., 2.6.3., 2.6.4. y 2.6.5.

#### **Expresión de los resultados.**

$$HC = 100 - \text{Humedad} - \text{Grasa} - \text{Proteínas} - \text{Cenizas}$$

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN.**

Las tablas que a continuación se exponen reflejan los valores nutricionales expresados en porcentajes de proteínas, grasas, fibra, cenizas (contenido en minerales), hidratos de carbono, humedad y valor energético correspondiente a los distintos vegetales frescos (tabla 37) así como los valores nutricionales de los distintos vegetales deshidratados (tabla 38). Los ensayos se realizaron en condiciones de vacío y temperatura controlada (40 °C).

<b>Fórmula</b>	<b>Proteínas (%)</b>	<b>Grasa (%)</b>	<b>FDT (%)</b>	<b>Cenizas (%)</b>	<b>Humedad (%)</b>	<b>HC (%)</b>	<b>VE (Kcal)</b>
<b>Alcachofa</b>	2.4	0.1	10.8	1.3	82.5	2.9	18
<b>Borraja</b>	1.8	0.7	0.9	0.5	93	3.1	21
<b>ColBrócoli</b>	3.3	0.2	3.0	1.0	89.7	2.8	21
<b>Espárrago</b>	1.9	0.1	1.5	0.7	93.6	2.2	15
<b>Judía</b>	2.4	0.2	1.9	1	90.3	4.20	31
<b>Limón</b>	0.7	0.6	4.7	0.64	90.2	3.16	40
<b>Pimiento</b>	1.2	0.3	2.0	2.3	91	3.2	18
<b>Tomate</b>	0.88	0.2	1.40	0.02	94	3.5	18
<b>Zanahoria</b>	1.0	0.2	3.4	2.3	88.2	4.9	24

**Tabla 37.** Valor nutricional de macronutrientes en los vegetales frescos. Referencias de la tabla: FDT (Fibra Dietética Total), HC (Hidratos de Carbono), VE (Valor Energético).

<b>Fórmula</b>	<b>Proteínas (%)</b>	<b>Grasa (%)</b>	<b>FDT (%)</b>	<b>Cenizas (%)</b>	<b>Humedad (%)</b>	<b>HC (%)</b>	<b>VE (Kcal)</b>
<b>Alcachofa</b>	11.81	0.49	53.17	6.40	13.85	14.28	108.77
<b>Borraja</b>	22.39	8.7	11.19	6.22	12.94	38.56	322.10
<b>ColBrócoli</b>	27.77	1.68	25.25	8.42	13.32	23.56	220.44
<b>Espárrago</b>	25.03	1.32	19.76	9.22	15.70	28.98	227.92
<b>Judía</b>	21.11	1.76	16.71	8.79	14.70	36.93	248.00
<b>Limón</b>	6.53	5.59	43.82	5.97	8.64	29.46	194.27
<b>Pimiento</b>	11.98	2.99	19.96	22.96	10.16	31.94	202.59
<b>Tomate</b>	12.96	2.95	20.62	0.29	11.63	51.55	284.59
<b>Zanahoria</b>	7.51	1.50	25.53	17.27	11.4	36.79	190.70

**Tabla 38.** Valor nutricional de macronutrientes en los vegetales deshidratados. Referencias de la tabla: FDT (Fibra Dietética Total), HC (Hidratos de Carbono), VE (Valor Energético).

Evidentemente y debido al proceso de deshidratación al que son sometidos los vegetales, en la tabla 38 se puede observar un aumento notable en el contenido de todos los macro y micronutrientes, ya que al eliminar gran parte del agua que contienen, la concentración de éstos se ve mucho más crecida que en los vegetales frescos (Uusiku y cols., 2010).

Seguidamente, en la tabla 39, se detalla el valor nutricional de los vegetales deshidratados en la proporción seleccionada para la fórmula desarrollada en el presente trabajo de investigación.

<b>Fórmula</b>	<b>Proteínas (g)</b>	<b>Grasa (g)</b>	<b>FDT (g)</b>	<b>Cenizas (g)</b>	<b>Humedad (g)</b>	<b>HC (g)</b>	<b>VE (Kcal)</b>
<b>Alcachofa</b>	1.18	0.05	5.32	0.64	1.39	1.43	10.88
<b>Borraja</b>	2.24	0.9	1.12	0.62	1.29	3.86	32.21
<b>ColBrócoli</b>	2.78	0.17	2.53	0.84	1.33	2.36	22.04
<b>Espárrago</b>	2.50	0.13	1.98	0.92	1.57	2.90	22.79
<b>Judía</b>	2.11	0.18	1.67	0.88	1.47	3.69	24.80
<b>Limón</b>	0.65	0.56	4.38	0.60	0.86	2.95	19.43
<b>Pimiento</b>	1.20	0.30	2.00	2.30	1.02	3.19	20.26
<b>Tomate</b>	1.30	0.30	2.06	0.03	1.16	5.16	28.46
<b>Zanahoria</b>	1.50	0.30	5.11	3.45	2.28	7.36	19.07
<b>Fórmula</b>	<b>Proteínas Totales (%)</b>	<b>Grasa Total (%)</b>	<b>FDT (%)</b>	<b>Cenizas Totales (%)</b>	<b>Humedad total (%)</b>	<b>HC Totales (%)</b>	<b>VE total (Kcal)</b>
<b>Mezcla</b>	15.46	2.85	26.15	10.28	12.37	32.88	219.01

**Tabla 39.** Valor nutricional de macronutrientes en los vegetales deshidratados referido a los porcentajes de la fórmula desarrollada. Referencias de la tabla: FDT (Fibra Dietética Total), HC (Hidratos de Carbono), VE (Valor Energético).

A las formulaciones desarrolladas posteriormente, tales como granulado sacaruro, granulado efervescente y pastillas masticables, se les realizó de la misma manera el ensayo de los distintos parámetros nutricionales determinando también su contenido en proteínas, cenizas (minerales), fibra, grasa, humedad e hidratos de carbono y así comprobar en qué medida los excipientes de estas formulaciones pudieron influir en cuanto a los valores nutricionales se refiere.

Los parámetros nutricionales de las diferentes formulaciones expresados en porcentajes se muestran en la tabla 40.

<b>Parámetros nutricionales</b>	<b>Mezcla de vegetales</b>	<b>Granulado sacaruro</b>	<b>Granulado efervescente</b>	<b>Pastillas masticables</b>
<b>Proteínas (%)</b>	15.46	3.50	3.66	5.04
<b>Cenizas (%)</b>	10.28	2.69	4.33	2.46
<b>Humedad (%)</b>	12.37	3.33	4.08	22.21
<b>FDT (%)</b>	26.15	7.16	6.85	3.92
<b>Grasa (%)</b>	2.85	0.86	0.74	0.43
<b>HC (%)</b>	32.88	82.46	75.05	65.94
<b>VE (Kcal)</b>	219.01	351.58	321.50	287.79

**Tabla 40.** Valor nutricional de macronutrientes expresado para 100g de mezcla de vegetales, granulado sacaruro, granulado efervescente y pastillas masticables. Referencias de la tabla: FDT (Fibra Dietética Total), HC (Hidratos de Carbono), VE (Valor Energético).

Cabe destacar el elevado porcentaje proteico de la mezcla vegetal, cuyo contenido es exclusivamente deshidratado, frente al resto de formulaciones.

Obviamente también resalta el contenido de hidratos de carbono presentes en pastillas masticables, 65.94% y granulados 75.05 y 82.46%, dada la gran proporción de sacarosa presente en estas formulaciones, frente al 32.88% de la mezcla de vegetales.

La población infantil es un grupo de población con alto riesgo de sufrir malnutrición cuando se mantienen dietas carenciales debido a sus escasas reservas.

En 1999, una encuesta realizada por la Organización Nacional de Consumo en Sudáfrica reveló que una mayoría significativa de niños con edades comprendidas entre los 1 y 9 años consumen una dieta deficiente en energía y pobre en nutrientes (MacIntyre y Labadarios, 2000)

En este sentido el valor energético aportado por las diferentes formas de dosificación no sólo aportarían micronutrientes y macronutrientes sino un refuerzo energético fundamental en determinadas situaciones.

Para entender las diferencias de parámetros nutricionales plasmados en la tabla anterior, hay que tener en cuenta que la proporción de deshidratados vegetales en cada forma de dosificación no es la misma como tampoco será igual la cantidad que, de cada una de estas formulaciones, se deberá consumir para obtener la misma dosis de deshidratados vegetales.

Con objeto de estudiar la incidencia del vehículo sobre el valor nutricional de la mezcla de vegetales, los datos obtenidos para cada una de las fórmulas desarrolladas se corrigen respecto a la Dosis Diaria Recomendada (DDR) en pediatría de vegetales deshidratados. Es decir la cantidad de vegetales deshidratados equivalente a la ingesta diaria recomendada de vegetales frescos para un niño. Según los manuales sobre alimentación consultados se recomienda un consumo diario de 100 gramos de vegetales frescos lo que corresponde con aproximadamente 10 g de vegetales deshidratados por día.

Tomando como referencia estas recomendaciones se calculan los parámetros nutricionales para cada formulación y de esta forma poder comparar los resultados obtenidos (Tabla 41).

<b>Parámetros nutricionales</b>	<b>Mezcla de vegetales</b>	<b>Granulado sacaruro</b>	<b>Granulado efervescente</b>	<b>Pastillas masticables</b>
<b>Proteínas</b>	1.55	1.58	1.65	3.02
<b>Cenizas</b>	1.03	1.21	1.95	1.48
<b>Humedad</b>	1.24	1.50	1.84	13.33
<b>FDT</b>	2.61	3.22	3.08	2.35
<b>Grasa</b>	0.28	0.39	0.33	0.26
<b>HC</b>	3.28	37.11	33.77	39.56
<b>VE (Kcal)</b>	21.90	158.21	144.67	172.67

**Tabla 41.** Valor nutricional de macronutrientes para todas las formulaciones elaboradas y referido a la DDR de vegetales para un niño. Referencias de la tabla: FDT (Fibra Dietética Total), HC (Hidratos de Carbono), VE (Valor Energético).

Numerosos estudios demuestran que los procesos térmicos a los que son sometidos muchos vegetales durante el procesado para la elaboración de deshidratados u otras formas de administración, pueden provocar modificaciones en cuanto a los valores nutricionales se refiere (Uusiku y cols., 2010; Gupta y Brains, 2006). En determinados casos, son capaces de variar las concentraciones de proteínas degradándolas o bien facilitando su digestión (Gibson y cols., 2006), o incluso disminuyendo las cantidades de ciertas vitaminas y minerales (Cheynier, 2005; Mepba y cols., 2007; Shitanda y Wanjala, 2006). Normalmente no producen efectos sobre la fibra debido a la gran estabilidad que presenta ésta en los vegetales (Serrano y cols., 2009; Kala y Prakash, 2004; McDougall y cols., 1996).



A diferencia de cualquier otra etapa de la vida, en la pediátrica, son los cambios en los hábitos alimentarios una de las características más destacables en los que se producen déficit de macro y micronutrientes.

Para contrarrestar esto, distintas organizaciones como European Food Safety Authority (EFSA), Food and Agriculture Organization (FAO), United States Department of Agriculture (USDA), World Health Organization (WHO) recomiendan un incremento en el consumo de frutas y verduras (Allende et al., 2006).

Las verduras son una fuente rica de vitaminas y otros componentes que contribuyen a la actividad antioxidante en la dieta (Gupta y Bains, 2006)

Es cierto que no sólo de su ingesta depende el buen estado físico y mental del individuo pero si se ha demostrado que una baja ingesta de frutas y verduras no sólo produce algunas deficiencias en micronutrientes, sino que también es uno de los 10 factores de riesgo que contribuyen a la mortalidad en el mundo (Ezzati y cols., 2002).

A estas informaciones se suman otras referentes a países industrializados en los que las causas de las deficiencias en vitaminas y minerales son múltiples. Algunas de ellas son:

- el carácter perecedero de los vegetales (Villanueva y cols., 2005).
- situaciones especiales como post-operatorios, tratamientos farmacológicos, periodos de mayor actividad física o psíquica, situaciones de desabastecimiento.
- los nuevos estilos de vida, los cuales han provocado que se abandonen determinados hábitos de alimentación saludables. En la sociedad actual, los desequilibrios y desajustes alimentarios están relacionados con la aparición de un gran número de enfermedades. La falta de tiempo para cocinar y el ritmo de vida actual conducen a que muchas personas no sigan una alimentación equilibrada y, por tanto, no ingieran todos los nutrientes o las cantidades adecuadas que necesitan. (*Guía de alimentos funcionales*, Instituto Omega 3, Sociedad Española de Nutrición Comunitaria y Confederación Española de Consumidores y Usuarios).

Ante todas estas carencias han surgido una serie de recomendaciones y/o propuestas con las que satisfacer la demanda de los consumidores. Entre estas, destaca la entrega de suplementos y la fortificación de alimentos.

Experiencias de este tipo han sido llevadas con éxito en algunos países. En 2003, un equipo de enriquecimiento fue utilizado en el campo de refugiados en Zambia

Nangweshi para fortalecer la harina de maíz con una serie de micronutrientes (Seal y Prudhon C, 2007.)

Diversos estudios proponen también la deshidratación de frutas y verduras con objeto de facilitar su consumo siempre que convenga.

Sin embargo este tipo de procesos puede afectar entre otras propiedades al contenido nutricional (Agte y col., 2000). Además los excipientes utilizados en la suplementación podrían no adecuarse a las carencias nutricionales.

En relación a esto, observamos (tabla 41) que el valor nutricional de fibra dietética total, cenizas y grasa, en todas las formulaciones se mantienen similares. Sin embargo, era evidente que, tras la adición de cantidades determinadas de glucosa, los hidratos de carbono aumentarían, tanto en los granulados como en las pastillas masticables. Otro dato a tener en cuenta es el incremento que se refleja en el valor de las proteínas de las pastillas masticables, incremento también lógico teniendo en cuenta la adición de gelatina.

Cabe destacar la estabilidad de las formulaciones en el transcurso del tiempo durante la elaboración de las distintas formulaciones, sin apreciaciones importantes dignas de ser comentadas.

La RDA (Recommended Dietary Allowances) indica las recomendaciones básicas que se deberían seguir para establecer raciones de alimentos adecuadas, que aseguren el aporte necesario para el óptimo crecimiento y desarrollo físico y psicológico del individuo. Según estas, las necesidades energético-proteicas para un niño son en general más elevadas que para los adultos, siendo recomendables en un 15% de la dieta. En cuanto a la ingesta de hidratos de carbono oscilan entre un 50-60% y las de grasas entre un 25-35%.

En base a las RDA y junto a los resultados obtenidos (tabla 41) se deduce que las cantidades necesarias, según se trate, de cada forma farmacéutica (45 g de Granulado sacaruro, 45 g de Granulado efervescente y 60 g de Pastillas masticables) equivalentes a 10 gramos de la mezcla de vegetales aportan aproximadamente un 10% de la cantidad diaria recomendada (CDR) de proteínas, a excepción de las pastillas de goma que aportarían un 20.13%, valor algo por encima de la DDR de proteínas. En el caso del aporte de grasas, las cuatro formulaciones elaboradas, aportarían alrededor de un 1.5% de las CDR. Finalmente, los hidratos de carbono, en el caso de la mezcla de vegetales resultaron aportar el 6.65% de DDR (Dosis Diarias Recomendadas) frente al 70-80% que aportan las pastillas masticables y granulados efervescente y sacaruro, superando

las CDR. Pese al elevado valor de HC, no podemos obviar que el objetivo de estas formas no era la absoluta sustitución de la ingesta de vegetales frescos sino un suplemento o fortificación de la dieta infantil, en cuyo caso, la ingesta de estas fórmulas será menor y no supondrán ningún problema.

La determinación de cenizas en los alimentos se basa en el residuo seco que se obtiene después de que la muestra del alimento ha sido sometida a elevadas temperaturas de ignición y oxidación, siendo este residuo de naturaleza inorgánica compuesta por sustancias minerales (Guzmán y Chávez, 2007). Al igual que los macronutrientes, las vitaminas y minerales son estrictamente necesarios para evitar deficiencias y alteraciones en el desarrollo infantil. Son necesarias en pequeñas cantidades, aunque no por ello son menos importantes que otros nutrientes. No aportan energía, no se utilizan como combustible, pero sin ellas el organismo no es capaz de aprovechar los elementos constructivos y energéticos suministrados por la alimentación. A este respecto, las fórmulas seleccionadas contribuyen con una cantidad de minerales de alrededor de 1 a 2 g de las cantidades diarias recomendadas.

## **CAPACIDAD ANTIOXIDANTE**

### **Introducción.**

Una dieta rica en frutas y verduras puede proporcionar una gran cantidad y variedad de antioxidantes, que pueden tener efectos significativos sobre la salud (Saura-Calixto y Goñi, 2006). Se cree que este efecto se consigue mediante la exposición acumulativa biológica de los antioxidantes que son capaces de extinguir la proliferación de radicales de oxígeno (ROS) y nitrógeno reactivo (RNS), especies que están implicadas en la patología de ciertas enfermedades (Valko y cols., 2007).

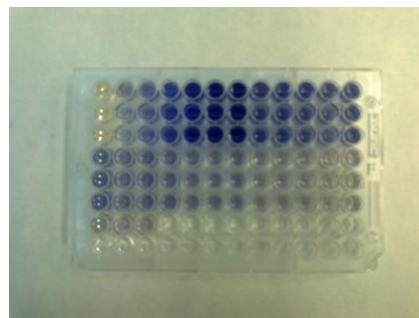
Una forma de aumentar las defensas antioxidantes sería ingerir una dieta rica en antioxidantes y / o complementar la dieta aumentando la ingesta de vitaminas como la C, E, beta-caroteno, los flavonoides y otros compuestos fenólicos. Estudios recientes han demostrado que una serie de vegetales deshidratados como tomate, zanahoria, cebolla, ajo y brócoli presentaron una alta capacidad antioxidante cuando se cuantificaron mediante ensayos bioquímicos (Kurilich y cols, 2002; Ichikawa y cols, 2003; Lichtenthaler y Marx, 2005; Giovanelli y Pagliarini, 2009). Publicaciones previas han dado información detallada sobre la modulación inmune, la peroxidación lipídica in vivo y la contribución del consumo de zumos de tomate y la zanahoria en la carcinogénesis (Bub y cols, 2000; Watzl, y cols, 2003). En general, estos estudios han proporcionado información acerca de vegetales deshidratados, pero ningún estudio, hasta la fecha, ha proporcionado información con respecto a mezclas de vegetales deshidratados y/o vehiculizados en granulados o pastillas de goma.

### **Determinación de los compuestos fenólicos.**

La determinación de los compuestos fenólicos fue realizada con el Lector Multi-Modal de Microplacas basado en Monocromadores Synergy™ Mx de Biotek (Figura 77 -78).



**Figura77.** Lector de microplacas



**Figura78.** Placa 99 pocillos

Su sistema con monocromador cuádruple, selecciona longitudes de onda con una capacidad de repetición de  $\pm 0.2$  nm. Su avanzado sistema de control de temperatura 4-Zone™, permite una incubación de 37°C hasta 65 °C con una precisión de  $\pm 0.5$  °C. Estas características hacen del lector multi-modal de microplacas un dispositivo de gran precisión, sensibilidad y flexibilidad.

Reactivos:

Los reactivos empleados para la determinación de los compuestos fenólicos fueron todos suministrados por Panreac (Barcelona, España).

- Reactivo Folin- Ciocalteu
- Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 15%
- Ácido gálico
- Agua bidestilada

Procedimiento:

Como estándar para la realización de la recta patrón usamos el ácido gálico, en un rango de concentraciones de 0.005, 0.01, 0.025, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 y 1 mg/ml.

En tubos de 10 ml de capacidad se adicionaron 6 ml de agua bidestilada, a continuación se añaden 500  $\mu$ l del reactivo Folin-Ciocalteu y 2 ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 15%, inmediatamente después se añaden 100  $\mu$ l de muestra, de patrón o de blanco según lo que corresponda, enrasando finalmente con agua bidestilada hasta los 10 ml del tubo. Es importante, para que se produzca la reacción, agitar cada tubo continuamente durante 1 minuto. Una vez preparados los tubos, éstos son guardados en oscuridad durante 2 horas. Tras la incubación, se añaden 250  $\mu$ l de la mezcla anterior a cada pocillo de una placa de 96 pocillos y se realiza la medida de la absorbancia a 750 nm a 25°C.

El valor de la determinación de los compuestos fenólicos de la muestra se expresará en mg de ácido gálico por g de muestra.

**Determinación de la capacidad antioxidante en equivalentes de Trolox (TEAC, “Trolox-Equivalent Antioxidant Capacity”).**

La medida de la absorbancia para la determinación de la capacidad antioxidante por el método TEAC se realizó con un espectrofotómetro (PERKIN ELMER INSTRUMENT.

LAMBDA 40 UV/VIS SPECTROMETER/Alemania) (Figura 79), utilizando cubetas de plástico de 1.5 ml.



**Figura 79.** Espectrofotómetro

Reactivos:

Para llevar a cabo este procedimiento se emplearon los siguientes reactivos:

- ABTS (ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico) (Sigma-Aldrich, Steinheim/Alamania)
- Persulfato potásico 2.45 mM (Panreac, Barcelona/España)
- Trolox (pm: 250.29) (6-hidroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) (Panreac, Barcelona/España)
- Agua bidestilada

Procedimiento:

El radical catión se prepara mediante la reacción entre una disolución 7mM de ABTS en agua bidestilada mezclándola con persulfato potásico 2.45 mM. Esta mezcla se deja incubar durante 12-24 horas en oscuridad a T<sup>a</sup> ambiente.

Posteriormente, dicha mezcla se diluye en agua, para llevar a cabo el ensayo, hasta obtener una absorbancia de  $0.714 \pm 0.02$  a una  $\lambda = 734$  nm en el espectrofotómetro.

Para construir la recta patrón se utiliza Trolox 1 mM (6-hidroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), análogo de la vitamina E, a distintas concentraciones: 0.001, 0.0027, 0.0068, 0.014, 0.027, 0.055 y 0.083 mg/mL.

Se añaden 1 ml de la disolución de ABTS<sup>●+</sup> a la cubeta y se hace una primera lectura inicial a 734 nm, siendo los datos de absorbancia inicial. A continuación, añadimos 100  $\mu$ L, por triplicado, de las distintas disoluciones de Trolox y muestras. El blanco se hace añadiendo 100  $\mu$ l de agua bidestilada.

El valor TEAC de la muestra se expresará en  $\mu$ moles equivalentes de Trolox por g de muestra.

#### **Determinación de la capacidad de reducción del ión férrico (FRAP).**

Las determinaciones de capacidad antioxidante fueron realizadas, al igual que la determinación de los compuestos fenólicos, con el Lector Multi-Modal de Microplacas Basado en Monocromadores Synergy™ Mx de Biotek (ver figura 77 y 78).

Reactivos:

Los reactivos empleados para la determinación de la capacidad antioxidante fueron suministrados todos ellos por Panreac (Barcelona, España). Son los siguientes:

- Acetato de sodio 300 mM
- 1.6% ácido acético, pH 3.6
- TPTZ 10 mM (Complejo férrico-2,4,6-tripiridil-s-triazina)
- Ácido clorhídrico 40 mM
- Cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) 20 mM
- $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  2.9 mM
- Agua bidestilada

Procedimiento:

Los siguientes reactivos se mezclan en una relación A:B:C (10:1:1):

A. Acetato de sodio 300 mM en agua, 1,6% de ácido acético, pH 3.6.

B. Complejo férrico-2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) 10 mM en 40 mM de HCl en agua.

C. Cloruro férrico ( $\text{Cl}_3\text{Fe}$ ) 20 mM en agua.

El lector de placas se atempera a 37°C durante 5 min. Se añaden 250  $\mu$ l de la mezcla anterior a cada pocillo de una placa de 96 pocillos y se realiza una primera medida de absorbancia a 593 nm como datos de absorbancia inicial.

A continuación se añaden, por triplicado, 40  $\mu$ L del extracto convenientemente diluido, así como del patrón de  $\text{FeSO}_4$  para realizar la recta de calibrado. Como blanco se utiliza 40  $\mu$ L de agua bidestilada. Se introduce nuevamente la placa en el lector, se agita y se

esperan 4 min para que la reacción tenga lugar. Finalmente, se mide la absorbancia a 593 nm para obtener los valores de absorbancia final.

La recta de  $\text{FeSO}_4$  se realizó a las siguientes concentraciones: 0, 25, 50, 100, 200 y 300  $\mu\text{M}$ .

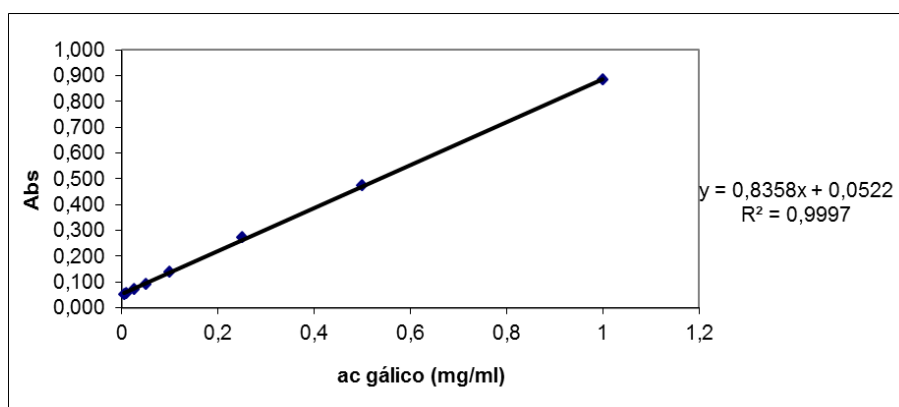
El valor FRAP de la muestra se expresará en  $\mu\text{moles}$  equivalentes de  $\text{FeSO}_4$  por g de muestra.

### Resultados y discusión.

Como criterios fundamentales de validación de las metodías analíticas usadas se han utilizado la precisión, la exactitud y la linealidad. La validación de las metodías analíticas se ha realizado mediante la preparación y valoración de 5 rectas de calibrado.

### Determinación de los compuestos fenólicos.

La concentración de compuestos fenólicos totales fue determinada siguiendo el método de Folin-Ciocalteu, usando el ácido gálico como estándar para realizar la recta patrón (Singleton y Rosi, 1956). Utilizamos concentraciones óptimas de ácido gálico, obteniendo una recta patrón con un coeficiente de determinación  $R^2 = 0.9997$  (Figura 80).



**Figura 80.** Recta patrón para la determinación de compuestos fenólicos totales.

El rango de diluciones de la muestra, en este caso el polvo la mezcla de vegetales, se ajustó, probando distintas concentraciones, tomando definitivamente, como concentraciones óptimas 5mg/ml, 3mg/ml y 2.5 mg/ml. El número de muestras seleccionadas fueron 9. Las medidas fueron realizadas por triplicado.

Los valores medios de 27 determinaciones junto a la desviación estándar obtenidos para la determinación de compuestos fenólicos se detallan en la tabla 42.



	T <sup>a</sup>	4°	25°	40°
Muestras	Días	CONTENIDO TOTAL POLIFENOLES		
Mezcla vegetales deshidratados	0	279.3 ± 3.03	273.5 ± 3.51	273.6 ± 5.50
	30	268.8 ± 0.14	262.6 ± 2.92	267.3 ± 3.88
	60	263.6 ± 1.51**##	242.90 ± 3.35**	286.40 ± 3.05*###
	90	257.5 ± 0.58**	235.20 ± 5.40***	287.20 ± 3.77*###

**Tabla 42.** Contenido Total de Polifenoles de la mezcla de deshidratados vegetales a diferentes temperaturas a lo largo del tiempo.

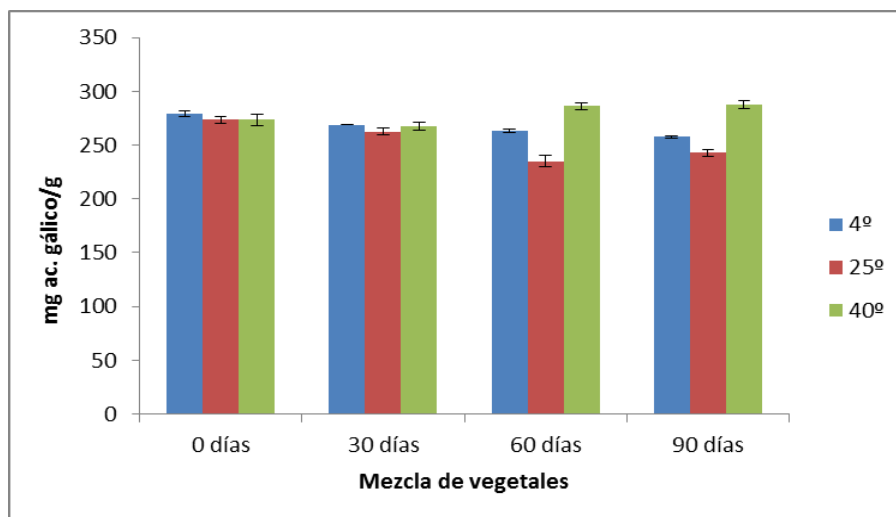
(\*): Diferencias estadísticas mediante ANOVA. Efecto del almacenamiento: muestras analizadas a día 30, 60 y 90 con respecto a las muestras analizadas a día 0 (\* p < 0.05), (\*\* p < 0.01), (\*\* p < 0.001).

(#): Diferencias estadísticas mediante ANOVA. Efecto de la Temperatura: muestras conservadas a 40 ° C y 4 ° C con respecto a muestras conservadas a 25° C (# p < 0.05), (# p < 0.01), (### p < 0.001).

Como ya se ha indicado, los polifenoles son un grupo bastante complejo que abarca desde moléculas simples, como ácidos fenólicos, hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos. A esta complejidad se suma el hecho de que en la naturaleza se presentan principalmente en forma conjugada, con uno o más residuos de azúcar, que pueden presentarse como monosacáridos, disacáridos e incluso como oligosacáridos, unidos a los grupos hidroxilo. Siendo la glucosa el residuo de azúcar más común. Son comunes también las asociaciones con otros compuestos como ácidos carboxílicos y orgánicos, aminas y lípidos, así como las uniones con otros fenoles (Turner, 2005). En consecuencia, la identificación de los compuestos fenólicos presentes en una matriz de origen vegetal es una tarea sumamente compleja que requiere el empleo conjunto de técnicas analíticas sofisticadas que ofrezcan información complementaria. Por este motivo y además debido a que el reactivo Folin- Ciocalteau, reaccionaba con el azúcar, siendo éste uno de los excipientes más utilizados en las formulaciones, la determinación de los compuestos fenólicos solo fue realizada a la muestra formada por la mezcla de polvos.

Según se observa en la figura 81, todas las muestras fueron una fuente importante de polifenoles, de hecho en el día 0 todas las muestras contenían la misma cantidad de polifenoles (p > 0,05) (273,5-279,3 mg equivalentes de ácido gálico (GAE) / g de muestra). Hasta el día 30, no se han registrado cambios, lo que significa que la temperatura de almacenamiento no tiene influencia en la cantidad total de polifenoles durante el primer mes, pero a partir del día 60 se aprecia una fluctuación

estadísticamente significativa. A 25 °C y 4 °C el contenido de fenoles totales disminuyó ( $p < 0,01$  a  $0,001$ ) ( $242,90 \pm 3,35$  -  $263,6 \pm 1,51$ ) con el paso del tiempo. Los resultados mostraron que, en general, las pérdidas totales de compuestos fenólicos fueron menores en las muestras almacenadas en refrigeración.



**Figura 81.** Contenido Total de Polifenoles (mg de ácido gálico/g de muestra) de la mezcla de deshidratados vegetales a diferentes temperaturas a lo largo del tiempo.

Sin embargo a 40 °C se produjo un aumento significativo ( $p < 0,01$ ) en el contenido de polifenoles totales (de  $273,6 \pm 5,50$  a  $286,40 \pm 3,05$ ). Hipotéticamente esto podría haberse debido a una potencial transformación estructural. Por ejemplo la reacción de Maillard que se produce entre la reducción de azúcares y proteínas, péptidos o aminoácidos durante el procesamiento y/o almacenamiento de alimentos, también puede dar lugar a diferentes productos con actividad antioxidante (Ryu y cols., 2001; Somoza y cols., 2005). Estos autores identificaron la formación de 2-furanilmetil-aminoácidos (2-FM-Lisina y 2-FM Arginina) durante el almacenamiento de las muestras de cebolla y ajo a 50 °C, por el contrario, no encontraron ninguna evolución de la reacción de Maillard en las muestras de ajo almacenados a 30 °C.

Por otro lado, la mayoría de las reacciones químicas son más lentas al disminuir el nivel de actividad de agua debido a que la solubilidad y movilidad de los reactivos disminuye, la única excepción sería la oxidación de los lípidos insaturados (Lavellia y Scarafoni, 2012). Precisamente según los datos obtenidos en el ensayo de determinación del grado de humedad, las muestras almacenadas a 40 °C transcurridos 90 días presentaron un contenido de humedad de la mitad que el resto de las muestras.

En consecuencia, desde un punto de vista de estabilidad, el almacenamiento de las formulaciones aquí estudiadas a 4° C o 25° C es, en general, más ventajoso.

La literatura consultada indica que cada tipo de verdura tiene una actividad antioxidante diferente, debida a los diferentes componentes antioxidantes, como  $\alpha$ -tocoferol,  $\beta$ -caroteno, vitamina C, selenio o compuestos fenólicos. Además existe un amplio grado de variación entre diferentes compuestos fenólicos o vitaminas. En este sentido, por ejemplo, Yadav y Sehgal (1995) mostraron que la cocción de espinaca en una bandeja abierta durante 30 minutos redujo el contenido de vitamina C un 90% mientras que el contenido de  $\beta$ -caroteno se redujo un 50%.

Los polifenoles se dividen generalmente en taninos hidrolizables y fenilpropanoides, como las ligninas, flavonoides y taninos condensados. El grupo más grande y mejor estudiado de polifenoles son los flavonoides. Los flavonoides son una clase de metabolitos secundarios de plantas que se cree que ejercen efectos beneficiosos para la salud a través de sus propiedades antioxidantes y quelantes, siendo el principal contribuyente a la capacidad antioxidante de las verduras (Heim y cols., 2002). Los flavonoides tienen generalmente más grupos hidroxilo si se compara con los ácidos cinámicos. Además, la orto sustitución donante de electrones con grupos alquilo o metoxi de flavonoides, aumenta la estabilidad y por lo tanto su potencial antioxidante de radicales libres (Rice-Evans y cols., 1995). Algunos flavonoides son sensibles a la temperatura, pero, por el contrario, la temperatura aumenta la liberación de otros, como el licopeno de la cáscara del tomate, aumentando así la capacidad antioxidante total del producto final (Gartner y cols., 1997).

#### **Determinación de la capacidad antioxidante.**

Con objeto de determinar la temperatura de almacenamiento más adecuada, tres condiciones diferentes fueron estudiadas: 4° C, 25° C y 40° C.

La capacidad antioxidante (CA) de verduras no sólo depende de la composición vegetal, sino también de las condiciones de la prueba utilizada. Existen numerosos métodos de medida de capacidad antioxidante total in vitro publicados, de los cuales han sido bastante utilizados aquellos basados en la transferencia de electrones como ABTS y FRAP (Huang y cols., 2005; Dudonné y cols., 2009). La influencia de diferentes factores en la eficacia de los antioxidantes en la compleja matriz de los alimentos y/o los sistemas biológicos no pueden ser evaluados utilizando sólo un protocolo de ensayo

(Saura-Calixto y Goñi, 2006). Así pues, existe un consenso general en que se debe utilizar un conjunto de ensayos para evaluar la actividad antioxidante ya que ningún método por si solo puede dar una predicción completa de la eficacia antioxidante (Saura-Calixto, 2006) (Dudonné y cols., 2009). Los métodos utilizados deben ser rápidos, sensibles y reproducibles. En este estudio se han seguido dos metodologías distintas con el fin de evaluar la capacidad antioxidante de las muestras, como son el polvo de mezcla de vegetales, granulado efervescente, granulado sacaruro y pastillas masticables.

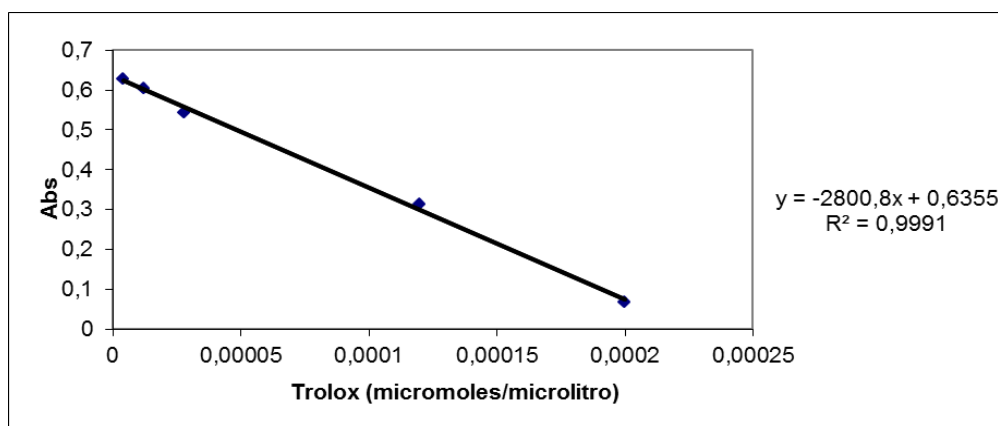
Los dos sistemas elegidos para evaluar la medida de CA son simples, de bajo costo, fáciles de interpretar y mostrar, tanto la capacidad de reducción (FRAP) como la inhibición directa de radicales libres (ABTS • +). Ambos métodos son ampliamente utilizados para evaluar CA en los alimentos y los sistemas biológicos (Frankel y Meyer, 2000).

Método TEAC.

Este método mide la capacidad de las sustancias antioxidantes para la reducción del radical catión ABTS•+ en comparación con el análogo hidrofílico de la vitamina E, Trolox, según Re y cols. (1999).

Se ajustó el rango de diluciones de la muestra, probando distintas concentraciones ya que cada formulación responde de una manera distinta al método, tomando definitivamente, para la mezcla de vegetales, concentraciones óptimas de 5mg/ml, 3mg/ml y 2.5 mg/ml para obtener el valor TEAC. Para los granulados, sacaruro y efervescente, se utilizaron concentraciones de 19mg/ml, 15mg/ml y 10mg/ml, y en el caso de las pastillas masticables las concentraciones fueron de 33mg/ml, 25mg/ml y 20mg/ml. El número de muestras seleccionadas fueron 9. Las medidas fueron realizadas por triplicado.

Obtuvimos las rectas patrón de Trolox (figura 82) enfrentando los  $\mu$ moles del patrón utilizado con respecto al incremento de absorbancia. El valor del coeficiente de correlación ( $R^2$ ) fue de 0.9991.



**Figura 82.** Recta patrón para la determinación de la capacidad antioxidante por el método ABTS

En la tabla 43 podemos ver reflejados los valores TEAC, media de 27 determinaciones junto a la desviación estándar, obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante.

	T <sup>a</sup>	4°	25°	40°
Muestras	Días	ABTS	ABTS	ABTS
<b>Mezcla de vegetales</b>	<b>0</b>	694,44 ± 0,01	678,97 ± 0,02	695,63 ± 0,004
	<b>30</b>	454,52 ± 0,01	510,43 ± 0,003	472,79 ± 0,02
	<b>60</b>	655,19 ± 0,03	662,31 ± 0,02	734,9 ± 0,005
	<b>90</b>	444,84 ± 0,02	463,12 ± 0,004	452,37 ± 0,02
<b>Granulado efervescente</b>	<b>0</b>	1607.86 ± 0,01	1598.96 ± 0,004	1594.52 ± 0,004
	<b>30</b>	1541.13 ± 0,01	1541.17 ± 0,01	1536.68 ± 0,01
	<b>60</b>	1198.75 ± 0,01	1194.30 ± 0,004	1189.86 ± 0,003
	<b>90</b>	1158.73 ± 0,002	1158.73 ± 0,01	1154.29 ± 0,004
<b>Granulado sacaruro</b>	<b>0</b>	691.87 ± 0,002	687.42 ± 0,002	682.97 ± 0,004
	<b>30</b>	678.53 ± 0,002	669.64 ± 0,003	665.19 ± 0,004
	<b>60</b>	665.19 ± 0,002	669.64 ± 0,00	660.74 ± 0,002
	<b>90</b>	594.02 ± 0,01	594.05 ± 0,01	589.61 ± 0,01
<b>Pastillas masticables</b>	<b>0</b>	514.63 ± 0,002	520.02 ± 0,00	499.18 ± 0,002
	<b>30</b>	484.57 ± 0,002	490.33 ± 0,002	478.25 ± 0,003
	<b>60</b>	443.60 ± 0,004	450.22 ± 0,003	439.05 ± 0,002
	<b>90</b>	415.18 ± 0,04	430.77 ± 0,03	399.60 ± 0,03

**Tabla 43.** Valores TEAC en nmoles eq. Trolox/g y DS

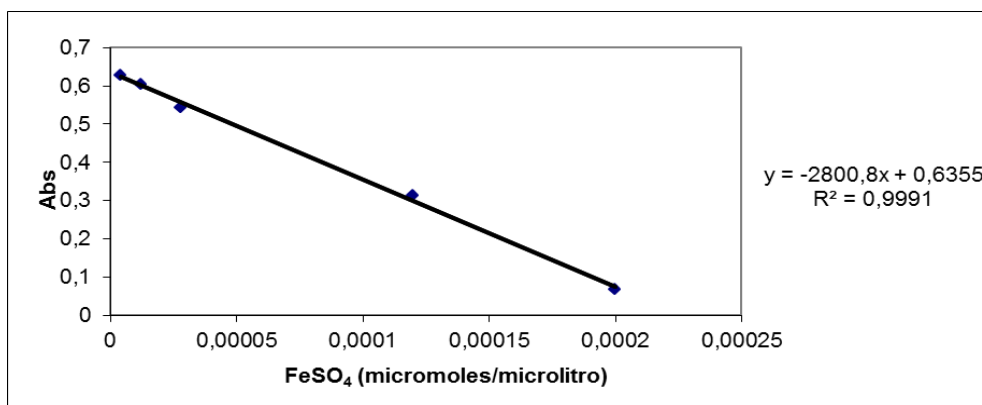
Método FRAP.

El ensayo FRAP está basado en la reducción del catión férrico ( $\text{Fe}^{+3}$ ) a ferroso ( $\text{Fe}^{+2}$ ) en pH ácido. El complejo férrico (TPTZ) incoloro es reducido al complejo ferroso coloreado azul intenso, medible espectrofotométricamente a 593 nm (Al Duais, 2009).

Para su realización, se puso a punto el método ajustando las concentraciones del patrón añadido, utilizando finalmente para realizar la recta patrón concentraciones óptimas de  $\text{FeSO}_4$ . Se ajustó también el rango de diluciones de la muestra, probando distintas

concentraciones de cada una ya que cada fórmula responde de una manera distinta al método, tomando definitivamente, para la mezcla de vegetales, concentraciones óptimas de 5mg/ml, 3mg/ml y 2.5 mg/ml para obtener el valor FRAP. Para los granulados, sacaruro y efervescente, se utilizaron concentraciones de 19mg/ml, 15mg/ml y 10mg/ml, y en el caso de las pastillas masticables las concentraciones fueron de 33mg/ml, 25mg/ml y 20mg/ml. El número de muestras seleccionadas fueron 9. Las medidas fueron realizadas por triplicado.

Obtuvimos las rectas patrón de  $\text{FeSO}_4$  enfrentando los  $\mu\text{moles}$  del patrón utilizado con respecto al incremento de absorbancia (Figura 83). El valor del coeficiente de correlación  $R^2$  al igual que en las otras metódicas fue de 0.9991. A partir de estas rectas patrón calculamos los nmoles equivalentes de  $\text{FeSO}_4/\text{mg}$  de muestra que se ha añadido a cada pocillo.



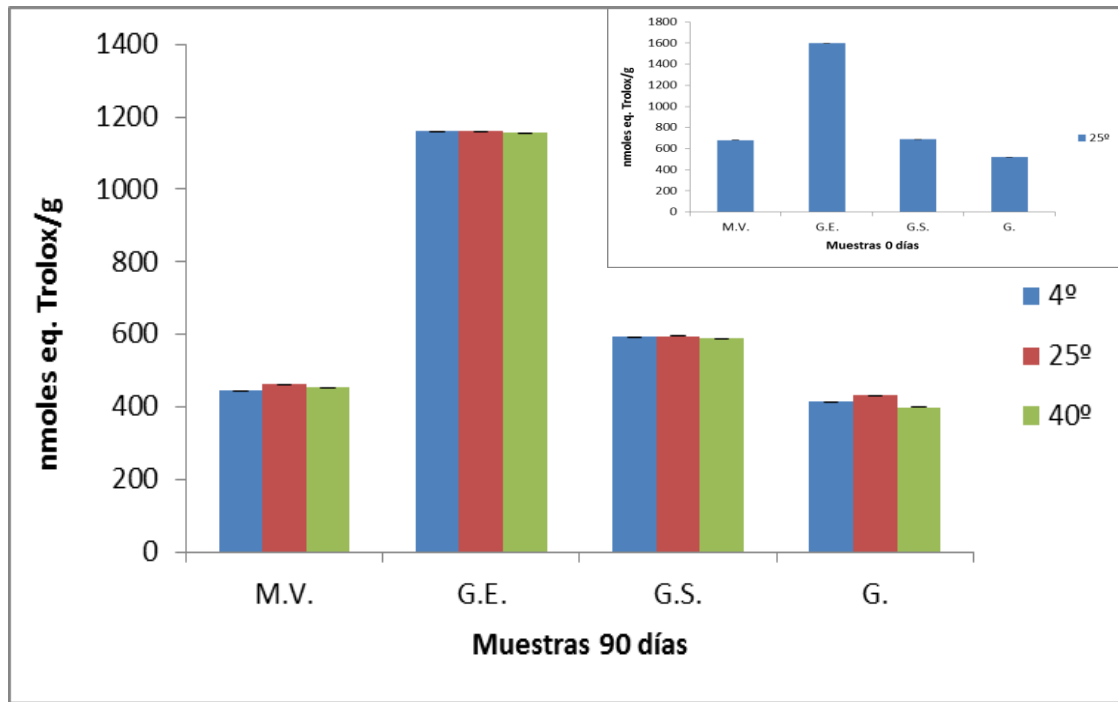
**Figura 83.** Recta patrón para la determinación de la capacidad antioxidante por el método FRAP.

La media junto a la desviación estándar de 27 determinaciones para FRAP obtenidos, y expresados en nmoles de equivalentes de  $\text{FeSO}_4/\text{g}$  de muestra, para cada una de las muestras analizadas se pueden ver reflejados en la tabla 44.

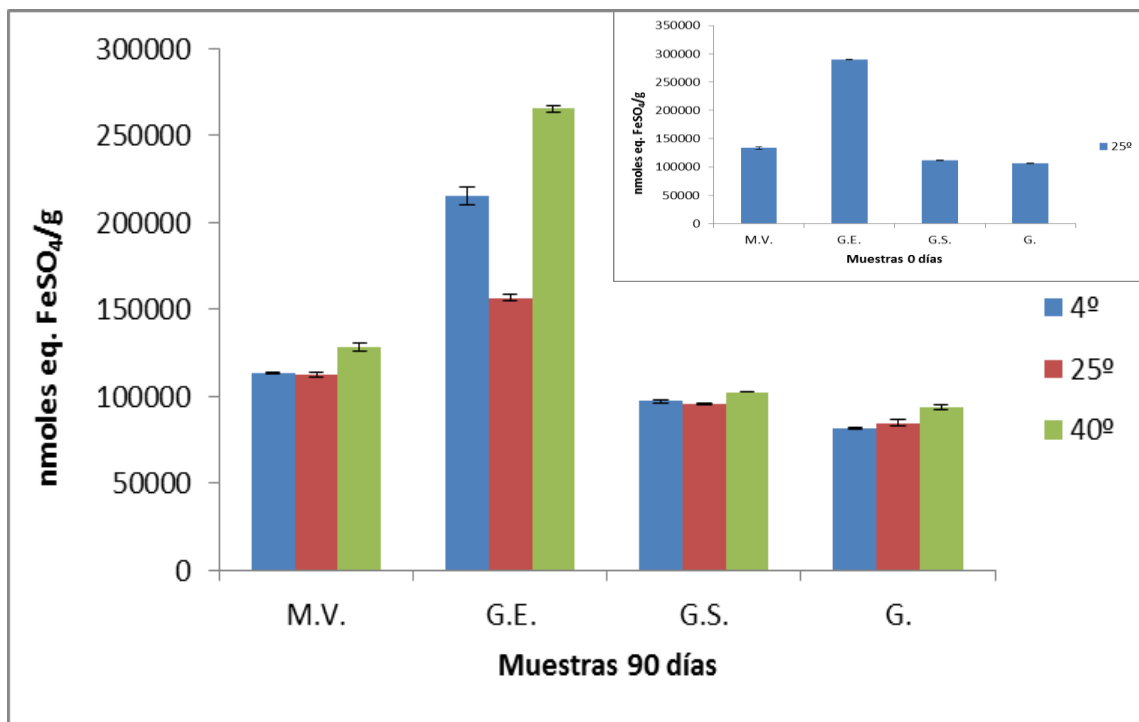
	T <sup>a</sup>	4°	25°	40°
Muestras	Días	FRAP	FRAP	FRAP
Mezcla de vegetales	0	133571,48 ± 2101,75	133683,21 ± 2127,18	125375,8 ± 3944,8
	30	132936,85 ± 1750,85	132805,18 ± 572,21	131209,44 ± 267,66
	60	119552,41 ± 5488,15	123890,8 ± 6370,36	132668,52 ± 3014,74
	90	113589,86 ± 587,88	112113,66 ± 1630,6	128067,69 ± 2487,99
Granulado efervescente	0	288788.64 ± 405,89	289843.14 ± 203,86	288435.66 ± 395,07
	30	280660.09 ± 2436,86	285065.55 ± 3179,43	287186.98 ± 1305
	60	237918.72 ± 869,15	240398.56 ± 1719,32	277718.25 ± 99,58
	90	215017.03 ± 5073,09	156632.47 ± 1670,59	265425.25 ± 1787,21
Granulado sacaruro	0	111147.19 ± 74,38	111851.94 ± 66,66	111499.18 ± 61,49
	30	106771.56 ± 555,27	108688.21 ± 1069,24	103512.23 ± 340,35
	60	104263.34 ± 1529,43	105319.13 ± 551,01	106207.87 ± 627,21
	90	96969.31 ± 705,29	95596.75 ± 682,91	102320.28 ± 237,67
Pastillas masticables	0	103600.30 ± 294,97	106570.46 ± 44,13	103022.01 ± 374
	30	106443.45 ± 1000,56	96040.86 ± 446,26	98372.20 ± 52,7
	60	88386.53 ± 312,89	95983.52 ± 61,68	129559.18 ± 1348,22
	90	81773.68 ± 303,02	84740.18 ± 1775,43	93607.63 ± 1150,52

Tabla 44. Valores FRAP en nmoles de equivalentes de FeSO<sub>4</sub>/g de muestra y DS

Algunos estudios han indicado que los diferentes métodos no siempre proporcionan las mismas respuestas (Plumb y cols., 1996), por lo que se hizo una comparación sobre el uso de los métodos TEAC y FRAP, para la medida de la CA de las distintas formulaciones (Figuras 84 y 85).



**Figura 84.** Actividad antioxidante expresada en nmoles eq. Trolox/g para M.V. (mezcla de vegetales), G.S. (granulado sacaruro), G.E. (granulado efervescente) y P.M. (pastillas masticables) a diferentes temperaturas a 90 días. En la parte superior derecha vemos la capacidad antioxidante expresada en nmoles eq. Trolox/g de las distintas muestras a 25° C en el día 0.



**Figura 85.** Actividad antioxidante expresada en nmoles eq. FeSO<sub>4</sub>/g para M.V. (mezcla de vegetales), G.S. (granulado sacaruro), G.E. (granulado efervescente) y P.M. (pastillas masticables) a diferentes



temperaturas a 90 días. En la parte superior derecha vemos la capacidad antioxidante expresada en nmoles eq. FeSO<sub>4</sub> /g de las distintas muestras a 25° C en el día 0.

Los valores de ABTS y FRAP iniciales de las formulaciones vegetales ensayadas varían considerablemente (tabla 45).

Muestras	T°	4° C		25° C		40° C	
	Días	FRAP	ABTS	FRAP	ABTS	FRAP	ABTS
Mezcla vegetales deshidratados	0	133571,48 ± 2101,75	694,44 ± 0,01	133683,21 ± 2127,18	678,97 ± 0,02	125375,8 ± 3944,8	695,63 ± 0,004
	30	132936,85 ± 1750,85	655,19 ± 0,03	132805,18 ± 572,21	662,31 ± 0,02	131209,44 ± 267,66	472,79 ± 0,02
	60	119552,41 ± 5488,15	454,52 ± 0,01	123890,8 ± 6370,36	510,43 ± 0,003	132668,52 ± 3014,74	452,37 ± 0,02
	90	113589,86 ± 587,88	444,84 ± 0,02	112113,66 ± 1630,6	463,12 ± 0,004	128067,69 ± 2487,99	734,9 ± 0,005
Granulado efervescente	0	288788,64 ± 405,89	1607,86 ± 0,01	289843,14 ± 203,86	1598,96 ± 0,004	288435,66 ± 395,07	1594,52 ± 0,004
	30	280660,09 ± 2436,86	1541,13 ± 0,01	285065,55 ± 3179,43	1541,17 ± 0,01	287186,98 ± 1305	1536,68 ± 0,01
	60	237918,72 ± 869,15	1198,75 ± 0,01	240398,56 ± 1719,32	1194,30 ± 0,004	277718,25 ± 99,58	1189,86 ± 0,003
	90	215017,03 ± 5073,09	1158,73 ± 0,002	156632,47 ± 1670,59	1158,73 ± 0,01	265425,25 ± 1787,21	1154,29 ± 0,004
Granulado sacaruro	0	111147,19 ± 74,38	691,87 ± 0,002	111851,94 ± 66,66	687,42 ± 0,002	111499,18 ± 61,49	682,97 ± 0,004
	30	106771,56 ± 555,27	678,53 ± 0,002	108688,21 ± 1069,24	669,64 ± 0,003	106207,87 ± 627,21	665,19 ± 0,004
	60	104263,34 ± 1529,43	665,19 ± 0,002	105319,13 ± 551,01	669,64 ± 0,00	103512,23 ± 340,35	660,74 ± 0,002
	90	96969,31 ± 705,29	594,02 ± 0,01	95596,75 ± 682,91	594,05 ± 0,01	102320,28 ± 237,67	589,61 ± 0,01
Pastillas de guma	0	106443,45 ± 1000,56	514,63 ± 0,002	106570,46 ± 44,13	520,02 ± 0,00	103022,01 ± 374	499,18 ± 0,002
	30	103600,30 ± 294,97	484,57 ± 0,002	96040,86 ± 446,26	490,33 ± 0,002	93607,63 ± 1150,52	478,25 ± 0,003
	60	88386,53 ± 312,89	443,60 ± 0,004	95983,52 ± 61,68	450,22 ± 0,003	98372,20 ± 52,7	439,05 ± 0,002
	90	81773,68 ± 303,02	415,18 ± 0,04	84740,18 ± 1775,43	430,77 ± 0,03	158950,00 ± 1348,22	359,60 ± 0,03

**Tabla 45.** Capacidad antioxidante de las formulaciones a diferentes temperaturas durante un periodo de tiempo de 3 meses.

Los resultados obtenidos mediante ABTS mostraron respuestas cuantitativas muy diferentes a los resultados aportados por el método FRAP para todas las muestras, aunque ambos mostraron la misma tendencia, es decir, la actividad antioxidante de las formulaciones manifiesta el mismo patrón en los dos métodos utilizados.

Primeramente se determina la CA de las muestras almacenadas a fin de evaluar el efecto del tiempo sobre esta propiedad. Cuando comparamos los valores de CA de las muestras conservadas a 4 °C y 25 ° C, al comienzo y al final del estudio, ambos métodos proporcionaron resultados similares de la CA total, la cual disminuye conforme transcurre el tiempo. En cambio cuando las muestras son almacenadas a 40 °C se produce un aumento de los valores de CA. Los resultados del análisis de ANOVA indicaron que la actividad antioxidante de las muestras a 40 °C es significativamente mayor ( $p < 0,001$ ) que el resto de las muestras. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos mediante el ensayo de contenido en compuestos fenólicos así como con los resultados obtenidos por otros autores, los cuales han demostrado que un alto contenido de polifenoles totales aumenta la función antioxidante obteniendo también una correlación lineal entre el contenido de polifenoles y la función antioxidante (Gorinstein y cols., 2003).

Otro de los objetivos de este estudio fue analizar las diferencias causadas por la temperatura para los datos obtenidos en un mismo periodo. Tanto ABTS como FRAP sólo mostraron diferencias estadísticamente significativas en las muestras analizadas a los 90 días, de forma que la CA de las muestras que se almacenan a 4 ° C y 25 ° C fue menor que la obtenida para las muestras almacenadas a 40 ° C. Al igual que antes, estos resultados corroboran los obtenidos para fenoles.

En cuanto al estudio de las diferentes formulaciones, el granulado efervescente muestra los valores más altos tanto de ABTS como FRAP (289843.14-1598.96 nmol / g), seguido por la mezcla de vegetales deshidratados en polvo (133683.21-678.97 nmol / g), granulado sacaruro (11851.94-687.42 nmol / g), y pastillas masticables (106.570,46-520,02 nmol / g). Este patrón fue evidente para todas las temperaturas y períodos de almacenamiento con ambos métodos.

Después de los procesos tecnológicos, los valores del FRAP y ABTS de todas las formulaciones fueron significativamente diferentes. Por ejemplo el granulado efervescente, en particular, mostró un aumento de casi el doble en el FRAP y ABTS. La menor pérdida fue causada por el proceso de granulación (16,33% en el caso del granulado sacaruro mediante el método FRAP), el cual se llevó a cabo a temperatura ambiente. En cambio las pérdidas de la capacidad antioxidante fueron superiores (20,28%) en las pastillas de goma, probablemente producidas por lo que en tecnología alimentaria se denomina “procesamiento aquatermal”. Otros autores han observado cambios similares de actividad antioxidante de los vegetales procesados en agua caliente (Ninfali y Bacchiocca, 2003; Zhang y Hamazu, 2004). De acuerdo con la bibliografía consultada, después del escaldado y ebullición, hay una reducción en la actividad antioxidante de los vegetales (Amin y cols., 2006). Probablemente, las pérdidas de capacidad antioxidante durante la elaboración de las pastillas de goma se deban a la dilución de estos compuestos en agua caliente. Esto puede ser una consecuencia del hecho de que la actividad antioxidante de la mezcla de vegetales pudiera corresponder principalmente a su alto contenido en vitaminas, las cuales muestran una mayor sensibilidad a los procesos acuatermales que los polifenoles, dando lugar, por tanto, a pérdidas variables (Kalt, 2005).

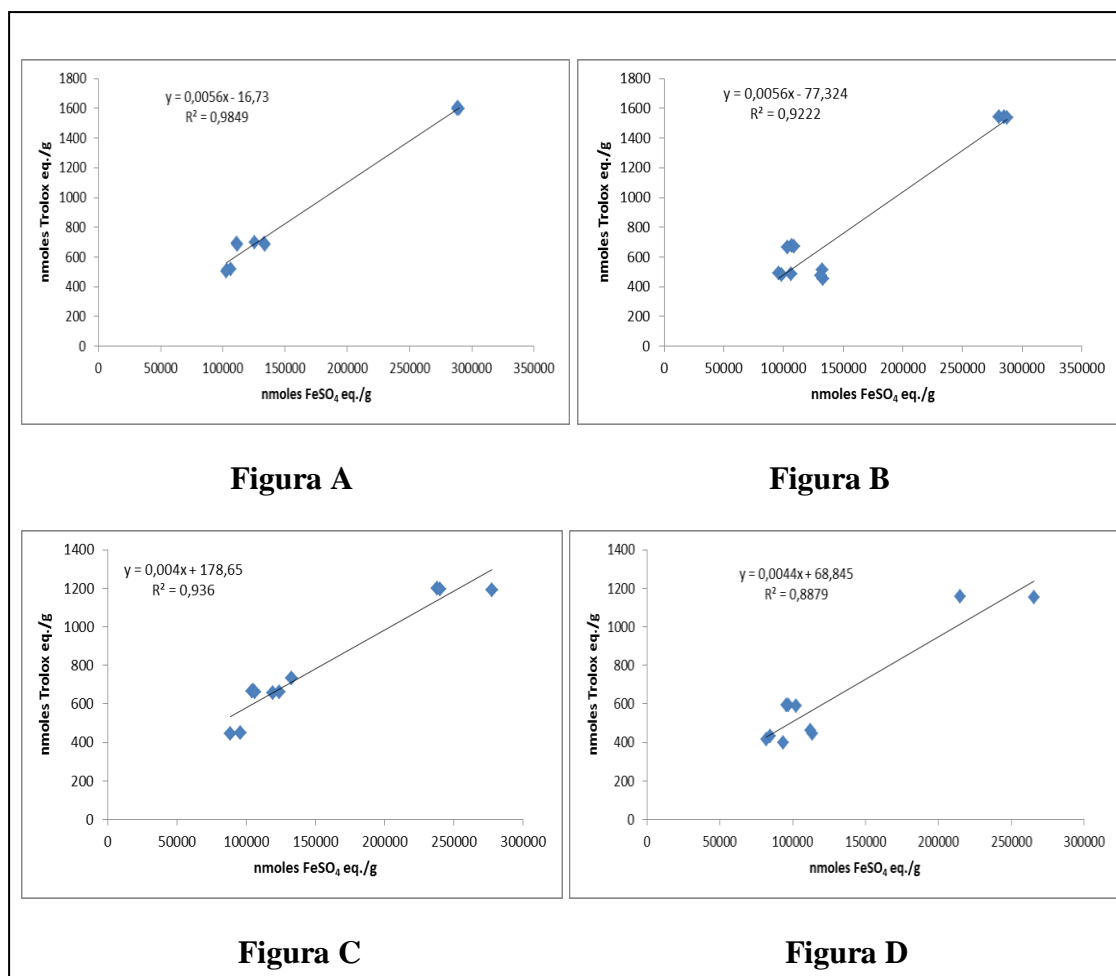
Curiosamente, los mayores cambios se observaron en el GE. El total de CA que se encuentra en esta forma era más del doble que en la mezcla de vegetales deshidratados. Las diferencias observadas podrían ser debidas a la presencia de ácido tartárico en dicha

formulación (Triantis y cols., 2002). El ácido tartárico es un ácido orgánico que se produce naturalmente en las uvas, piñas, moras, y plátanos, y es uno de los ácidos que se encuentran en el vino. Se añade a muchos alimentos debido a su actividad antioxidante. El ácido tartárico es un agente quelante suave y natural de metales pesados (Anastasiadi y cols., 2010). Es capaz de mejorar considerablemente la acción de antioxidantes primarios. Se considera como sinergista ya que mejora en gran medida la acción de los antioxidantes fenólicos (Strlic y cols., 2001). Por ejemplo, su efecto sinérgico ha sido observado entre las catequinas del té y la cafeína, el ácido ascórbico, cítrico, málico, tartárico y con los tocoferoles (Frankel y Huang, 1997). Además entre la comunidad científica se le reconoce como responsable de varios efectos fisiológicos beneficiosos para la salud humana por sus propiedades antioxidantes (Monagas y cols., 2005). En un estudio reciente, se demostró que el ácido tartárico es una parte clave del efecto beneficioso de uvas secadas al sol en el proceso de la diabetes así como en disfunciones del aparato digestivo y cardiovascular (Williamson y Carughi, 2010). Una dieta rica en pasas uva puede producir cambios bioquímicos en la sangre mostrando un aumento de las defensas antioxidantes.

Numerosas publicaciones relacionadas con los ensayos de ABTS y FRAP, encontraron correlaciones excelentes y significativas (Huang y cols., 2005; Katalinic y cols., 2006; Wong y cols., 2006) entre ambos métodos. Para correlacionar los resultados obtenidos con las diferentes metodicas, se realizó un análisis de regresión lineal. Los valores de ABTS fueron correlacionados linealmente con los valores de FRAP. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 46 y Figura 86.

Métodos/tiempo	0 días	30 días	60 días	90 días
<b>R<sup>2</sup> (ABTS-FRAP)</b>	0.9849	0.9222	0.936	0.8879

**Tabla 46.** Coeficiente de Correlación entre los diferentes métodos para la determinación de la capacidad antioxidante.



**Figura 86.** Correlación entre los diferentes métodos para la determinación de la capacidad antioxidante.

Los datos obtenidos mediante los ensayos de ABTS y FRAP a 0 día (figura 86-A) presentaron el mejor coeficiente de correlación ( $r = 0,9849$ ). También se obtuvo buena correlación aunque menor para los valores de 30, 60 y 90 días (Figuras 86-B, 86-C y 86-D). Pudiera ser que la ligera variación encontrada entre los resultados obtenidos por el método ABTS y el método FRAP esté relacionada con las diferentes condiciones de medición y la sensibilidad de los ensayos.

Por lo tanto varios métodos deben ser utilizados en paralelo para dilucidar el complejo campo de los antioxidantes y oxidación (Ou y col., 2002).

A pesar de que han encontrado una buena correlación entre todos los métodos utilizados aquí para evaluar CA, con más de un ensayo de antioxidantes es muy recomendable, un método único proporcionará información básica sobre las propiedades antioxidantes, pero una combinación de métodos se describen las propiedades antioxidantes de la muestra con más detalle.

Por otro lado, varios estudios han informado sobre las relaciones entre el contenido fenólico y la actividad antioxidante. Algunos autores encontraron una correlación entre el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante, mientras que otros no encontraron ninguna relación de este tipo. Velioglu y cols. (1998) reportaron una fuerte relación entre el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante en las frutas, verduras seleccionadas y productos de granos. Ninguna correlación fue encontrada entre la actividad antioxidante y el contenido de fenoles en el estudio de Kähkönen y cols. (1999) sobre algunos extractos de plantas que contienen compuestos fenólicos.

A pesar de los buenos resultados obtenidos en todas y cada una de las formulaciones ensayadas, no hay estudios previos, como los llevados a cabo, con los que poder establecer comparación alguna. No obstante encontramos una interesante aplicación entre los datos encontrados en esta Tesis y la dieta Mediterránea.

Saura-Calixto y Goñi, basándose en los datos de consumo español (MAPA, 2001), encontraron que la cantidad diaria consumida de vegetales por persona y día es de 280.8 gramos de porción comestible. Entre los vegetales se incluyen: patatas, tomates, cebollas, ajo, repollo verde, pepino, pimiento, champiñones, lechuga, espárragos, espinacas, acelga y otros.

Según los resultados obtenidos por estos autores, esta ingesta de vegetales corresponden a 2,87 mg de ácido gálico/ por gramo de materia seca de la porción comestible / persona / día de compuestos fenólicos, que aportan una CA de 10,3 y 6,7 ( $\mu\text{mol}$  Trolox equivalente por gramo de materia seca de la porción comestible) para el FRAP y ABTS, respectivamente (Saura-Calixto y Goñi, 2006).

Nuestros hallazgos sugieren que 1 g de la mezcla de vegetales deshidratados proporciona una cantidad de polifenoles que es 100 veces superior a la ingesta diaria de verduras consumidas al día por un español, referidas a la materia seca. Además cualquiera de las formulaciones desarrolladas poseen una CA mucho más alta, si consideramos los datos obtenidos con el método FRAP.

Por otro lado si consideramos el consumo diario de vegetales frescos, es decir 331 g/persona/día, estos autores encontraron 418  $\mu\text{mol}$  equivalentes de Trolox, 272  $\mu\text{mol}$  equivalentes Trolox y 117 mg de ácido gálico para el FRAP, ABTS y los métodos de Folin-Ciocalteu, respectivamente. Nuevamente los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que cualquiera de las formulaciones desarrolladas proporcionaría un cantidad

de polifenoles y una capacidad antioxidante muy superior a la ingesta diaria de vegetales consumida por cualquier español, lo que indica el potencial interés de nuestras formulaciones para el enriquecimiento o como suplementos de cualquier dieta.



# **CONCLUSIONES**





## CONCLUSIONES

Las conclusiones obtenidas tras todo el período de investigación se citan a continuación:

1. Se han obtenido deshidratados procedentes de alcachofa, borraja, col-brócoli, espárrago, judía, limón, pimiento, tomate, zanahoria; bajo condiciones controladas y estandarizadas que evitan la aplicación de procesos térmicos drásticos que pudieran modificar las propiedades funcionales y nutricionales de los vegetales en cuestión.
2. Los resultados observados en cada uno de los deshidratados vegetales aislados muestran una distribución de tamaños anormal que podría favorecer la irregularidad en la dosificación.
3. Para la formulación compuesta por la mezcla de polvos de deshidratados vegetales y en base a la mejor palatabilidad, se seleccionó un tamaño de partícula menor a 63 micras caracterizado por ser un polvo fino.
4. Entre las partículas predominan las formas poliédricas regulares granulares lo que supondría junto al pequeño tamaño de partícula, valores de humedad obtenidos y carácter poco poroso, efectos de cohesión, ocasionando una capacidad de flujo deficiente.
5. Todos los vegetales mantienen buenas características organolépticas a lo largo del tiempo, no percibiéndose modificaciones evidentes en cuanto a color, olor y sabor de los mismos.
6. Los deshidratados vegetales cumplen las normas microbiológicas para complementos dietéticos.
7. Acorde con la información experimental obtenida en el estudio de preformulación de los sólidos pulveriformes, éstos se consideran la base para la elaboración de otras formas farmacéuticas, tales como granulado efervescente, granulado sacaruro y pastillas masticables, con las que se puedan mejorar algunas de las características farmacotécnicas evaluadas anteriormente. En este sentido la elaboración de estas formas de dosificación estarían justificadas para mejorar las propiedades desfavorables de fluidez y propensión a la compresión.

A pesar de todo, las exigencias en cuanto a límites y por tanto uniformidad de contenido de este tipo de preparados es laxa, de hecho, en la actualidad, están siendo comercializados a granel.

Ambos granulados, tanto el efervescente como el sacaruro, presentan forma poliédrica regular granular, un tamaño de partícula regular y heterogéneo, que junto con los resultados obtenidos de porosidad y bajos valores de humedad, conllevan a una disminución de los efectos de cohesión entre las partículas, lo que supone una mejora en la capacidad de flujo y una buena velocidad de disgregación del preparado.

8. La caracterización tecnológica de las pastillas masticables resultó positiva, obteniéndose buenos tiempos de disgregación y favoreciéndose, por tanto, la liberación de los principios activos. Conseguimos finalmente una fórmula atractiva para niños, que satisface tanto sus gustos y sus necesidades nutricionales.
9. Todas las formas farmacéuticas desarrolladas cumplen las normas microbiológicas para el control de la contaminación microbiana en productos de administración oral no obligatoriamente estériles, que son administrados como tal o bien siendo diluidos en zumos, comida, etc, por lo que son considerados aptos para su consumo.
10. En cuanto a los estudios realizados sobre el valor nutricional, de la mezcla de deshidratados vegetales, los resultados obtenidos, los hace adecuados para cubrir aproximadamente el 10% del valor energético total recomendado al día para las edades preescolar y escolar, así como el granulado sacaruro, granulado efervescente y las pastillas masticables que cubren el 20, 18 y 16% respectivamente.

Además del indiscutible valor nutricional, todas las formas de presentación mostraron una adecuada capacidad antioxidante, respecto a los vegetales presentes en la dieta mediterránea, lo que sugiere su posible uso como alimento funcional y/o complemento de la dieta. No obstante fueron susceptibles a los tratamientos térmicos, mostrando una ligera disminución de su capacidad antioxidante a lo largo del tiempo cuando fueron almacenados a 4 y 25 °C, y por el contrario un ligero aumento a 40 °C.

Por último, resaltar la importancia tanto de una dieta equilibrada como de una educación alimentaria en el desarrollo infantil. Sin embargo, es importante tener en cuenta que una alimentación adecuada no siempre es posible y por tanto sólo en determinados casos, las fórmulas objeto de estudio en este trabajo podrían estar indicadas como suplemento alimenticio.



# **BIBLIOGRAFÍA**



**BIBLIOGRAFÍA**

1. Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta*. 306:1-17 (2001).
2. Agarwal S, Rao A V (2000). Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *Canadian Medical Association Journal*, 163(6), 739–744. (2000).
3. Agte VV, Tarwadi KV, Mengale S, Chiplonkar SA. Potential of traditionally cooked green leafy vegetables as natural sources for supplementation of eight micronutrients in vegetarian diets. *Journal of Food Composition and Analysis* 13, (2000) 885–891.
4. Aguilar CN, Reyes ML, De la Garza H, Contreras-Esquivel JC. Aspectos bioquímicos de la relación entre el escaldado TB-TL y la textura de vegetales procesados. *Revista de la Sociedad Química de México* 1999; 43: 54-62.
5. Aidoo H, Sakyi-Dawson E, Tano-Debrah K, Saalia FK. Development and characterization of dehydrated peanut-cowpea milk powder for use as a dairy milk substitute in chocolate manufacture. *Food Research International* 43, 2010. 79-85.
6. Aidoo H, Sakyi-Dawson E, Tano-Debrah K, Saalia FK. Development and characterization of dehydrated peanut–cowpea milk powder for use as a dairy milk substitute in chocolate manufacture. *Food Research International* 43, 2010. 79–85.
7. Al-Duais M, Müller L, Böhm V, Jetschke G. Antioxidant capacity and total phenolics of *Cyphostemma digitatum* before and after processing: use of different assays. *European Food Research and Technology*, 228, (2009) 813–821.
8. Algarin C, Peirano P, Garrido M, Pizarro F, Lozoff B. Iron deficiency anemia in infancy: long-lasting effects on auditory and visual system functioning. *Pediatr Res* 2003; 53: 217-23.
9. Allen Jr, ed. Pediatric chewable gummy gels. *IJPC* 1997; 1: 107.



10. Allen Jr. Troches and lozenges. *Secundum Artem*, 1997. Vol. 4, No. 2. Minneapolis, MN: Paddock Laboratories, Inc.
11. Allen T. Particle Size Measurement, vol 1 and 2, 5th edn. Chapman and Hall, London 1997.
12. Amanda R. Hinkle Gail D. Newton. *International Journal of Pharmaceutical Compounding* Vol. 8 No. 3 May/June 2004.
13. Amerine, MA., Pangborn RM., Roessler EB. 1965, Principios de la evaluación sensorial de alimentos. Academia press, Nueva York, EE.UU.
14. Amin I, Norazaidah Y, Hainida K I. Antioxidant activity and phenolic content of raw and blanched Amaranthus species. *Food Chemistry*, 94(1), 47–52 (2006).
15. Anastasiadi M, Pratsinis H, Kletsas D, Skaltsounis AL, Haroutounian SA. Bioactive non-coloured polyphenols content of grapes, wines and vinification by products: Evaluation of the antioxidant activities of their extracts. *Food Research International*, 2010, 43 , 805-810.
16. AOAC. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C. 1980.
17. Ares G. Jiménez A, Gámbaro A. Influence of nutritional knowledge on perceived healthiness and willingness to try functional foods. *Appetite* 2008; 51: 663-668.
18. Arvanitoyannis IS, Houwelingen-Koukaliaroglou MV. Functional foods: a survey of health claims, pros and cons, and current legislation. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2005; 45: 385-404.
19. Asplund K. Antioxidant vitamins in the prevention of cardiovascular disease: A systematic review. *Journal of Internal Medicine*, 251(5), 372–392 (2002)
20. Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic Compounds in Plants and Agri-Industrial By-Products: Antioxidant Activity, Occurrence, and Potential Uses. *Food Chem.* 99:191-203 (2006).
21. Ballabriga A, Carrascosa A. Nutrición en la infancia y adolescencia. 3ª Edición. Madrid. Ergón. 2006.

22. Barber TA. Pharmaceutical particulate matter. Análisis and control. Interpharm press. Buffalo Grove, 1993.
23. Barrajon-Catalán E, Fernández-Arroyo S, Saura D, Guillén E, Fernández-Gutiérrez A, Segura-Carretero A, Micol V. Cistaceae aqueous extracts containing ellagitannins show antioxidant and antimicrobial capacity, and cytotoxic activity against human cancer cells. *Food and Chemical Toxicology* 48: 2273–2282 (2010).
24. Barrera AM, Ramírez J.A., González-Cabriaes JJ and Vázquez M. Effect of pectins on the gelling properties of surimi from silver carp. *Food Hydrocolloids*. 2002 16, 441–447.
25. Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of ageing matures. *Physiol Rev.* 78:547-581 (1998).
26. Bello J. Los alimentos funcionales o nutraceuticos: 1. Nueva gama de productos en la industria alimentaria. *Alimentaria* 1995.
27. Bes G, Comellas J. Ayúdame a crecer sano: alimentación inteligente para tus hijos. Editorial: Amat, 1ª ed, 2006.
28. Bolin HR. Relation of moisture to water activity in prunes and raisins. *J. Food Sci.*, 1980. 45, 1190-1192.
29. Boon CDS, McClements J, Weiss J, Decker EA. Role of iron and hydroperoxides in the degradation of lycopene in oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 2009. 57, 2993-2998.
30. Bourne MC. Personal Communication. Cornell University. New York State Agricultural Experiment Station. Food Science & Technology Dept. Geneva. N.Y., U.S.A. 1994.
31. Bowman S.A, Gortmaker S.L, Ebbeling C.B, Pereira M.A, Ludwig D.S. Effects of Fast-Food Consumption on Energy Intake and Diet Quality Among Children in a National Household Survey. *Pediatrics* Vol. 113 No. 1. January 1, 2004 pp. 112 -118.
32. Bravo L, “Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance”, *Nutrition reviews*, 1998, 56(11), 317-333.

33. Brion F., Nunn AJ, Rieutord A. Extemporaneous (magistral) preparation of oralmedicines for children in European hospitals. *Acta Paediatr.* 2003; 92 (4): 486-490.
34. Brownell KD, Schwartz MB, Puhl RM, Henderson KE, Harris JL. The need for bold action to prevent adolescent obesity. *J Adolesc Health.* 2009;45(3 suppl):S8–S17
35. Bub A, Watzl B, Abrahamse L, Delinsee H, Adam S, Wever J, et al. Moderate intervention with carotenoid-rich vegetable products reduces lipid peroxidation in men. *The Journal of Nutrition*, 130(9), (2000) 2200-2206.
36. Bueno M, Sarria A, Pérez-González JM. *Nutrición en pediatría. Capítulo 1.* 3ª Edición. Editorial Ergón. 2007.
37. Bueno M. Conceptos básicos en nutrición en pediatría. En: Cruz M, ed. *Tratado de pediatría.* 9ª Edición. Madrid. Ergón. 2006; 11: 621-624
38. Buettner GR, Jurkiewicz BA. *Handbook of Antioxidants.* Cadenas E, Packer L. (Eds), Marcel Dekker, New York 1996.
39. Campanozzi A, Russo M, Catucci A, Rutigliano I, Canestrino G, Giardino I y cols. Hospital-acquired malnutrition in children with mild clinical conditions. *Nutrition* 2009; 25: 540-547.
40. Cervera P, Clapes J, Rigolfas R. *Alimentación y dietoterapia.* Editorial McGraw-Hill Interamericana. 1993. 2º Edición.
41. Cheynier V. Polyphenols in food are more complex than often thought. *The American Journal of Clinical Nutrition* 81, (2005) 2235-2295.
42. Clifford MN. Sensory and dietary properties of phenols. En: *Proceedings of the 16th International Conference of Grape Polyphenol*, 1992. Volume 16, Part 11:18-23.
43. Cole ET, Scott RA, Cade D, Connor AL, Wilding IR. In vitro and in vivo pharmacoscintigraphic evaluation of ibuprofen hypromellose and gelatin capsules. *Pharm. Res.* 21 (5), 2004, 793–798.

44. Conroy S, Choonara I, Impicciatore P, Mohn A, Arnell H, Rane A, et al. Survey of unlicensed and off label drug use in paediatric wards in European countries. *BMJ*. 2000;320:79-82
45. Cuzzolin L, Zaccaron A, Fanos V. Unlicensed and off-label uses of drugs in paediatrics: A review of literature. *Fundamental & Clinical Pharmacology*. 2003;17:125-31.
46. Dal-Re, Vardulaki. *Real Farmacopea Española (RFE)*. 3ª Edición. Madrid. 2005.
47. Danés Carreras I, Fuentes Camps I, Arnau de Bolós JM, Pandolfini C, Bonati M, Sammons H, et al. Un registro europeo de ensayos clínicos. *An Pediatr (Barc)*.2004;60:212-4.
48. Danés Carreras I, Vallano Ferraz A, De la Cruz Sugañes G, Juárez Giménez JC, Arnau de Bolós JM. Utilización de medicamentos y condiciones de uso recomendadas en pediatría. *An Esp Pediatr*. 2002;57:414-9.
49. Demars LL and Ziegler GR. Texture and structure of gelatin/pectin-based gummy confections. *Food Hydrocolloids*. 2001. 15, 643–653.
50. Doménech M, Estivill E. *A comer: Método Estivill para enseñar a comer*. Editorial: Plaza Janes Editores, 1ª ed, 2004.
51. Donauer N, Löbenberg R. A mini review of scientific and pharmacopeial requirements for the disintegration test. *International Journal of Pharmaceutics* 345, 2007. 2-8.
52. Drago M.E., López M., Sainz T. Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 2006. 37(004):58-68.
53. Drichoutis AC, Lazaridis P. Nutrition knowledge and consumer use of nutritional food labels. *European Review of Agricultural Economics* 2005; 32:93-118
54. Dudonné S, Vitrac X, Coutière P, Woillez M, Mérillon JM. Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of

- Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. *J. Agric. Food Chem.* 2009, 57, 1768–1774
55. Ezzati M, Lopez AD, Rodgers A, Van der Hoorn S, Murray CJL. Selected major risk factors and global and regional burden of disease. *Lancet* 360, (2002) 1347– 1360.
56. Fernández-Arroyo S, Rodríguez-Medina I, Beltrán-Debón R, Pasini F, Joven J, Micol V, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. Quantification of the polyphenolic fraction and in vitro antioxidant and in vivo anti-hyperlipemic activities of Hibiscus sabdariffa aqueous extract. *Food Research International.* 44: 1490-1495 (2011).
57. Fernández-Panchon MS; Villano D; Troncoso AM; García-Parrilla MC. Antioxidant activity of phenolic compounds: from in vitro results to in vivo evidence. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 48 649-671 (2008).
58. Fiese EF, Hagen TA. Preformulación. En Lachman, L. Lieberman, L.A. y Kaning, J.L. *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy.* 3ª Edición. Lea and Febiger. Philadelphia, 1986.
59. Foster B.C., Arnason J.T., Briggs C.J. Natural health products and drug disposition. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology.* (2005) 45:203-226.
60. Frankel E N, Huang S W, Aeschbach R. Antioxidant activity of green teas in different lipid systems. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 1997, 74, 1309-1315.
61. Frankel N F, Meyer A S. The problems of using onedimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science Food and Agriculture,* 80, (2000) 1925–1941.
62. García-Villalba R, Carrasco-Pancorbo A, Oliveras-Ferraros C, Vázquez-Martín J, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. Characterization and quantification of phenolic compounds of extra-virgin olive oils with anticancer properties by a rapid and resolute LC-ESI-TOF MS method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 51: 416–429 (2010).
63. Gärtner C, Stahl W, Sies H. Lycopene is more bioavailable from tomato paste than from fresh tomatoes. *The American Journal of Clinical Nutrition,* 66, (1997) 116–122.

64. Giacoia GP, Taylor-Zapata P, Mattison D. National Institute of Child Health and Human Development Bethesda, Maryland. International Journal of Pharmaceutical Compounding. Vol. 11, N°3, May/June, 2007.
65. Gibson RS, Perlas L, Hotz C. Improving the bioavailability of nutrients in plant foods at the household level. Proceedings of the Nutrition Society 65, (2006) 160-168.
66. Gil A, Sánchez de Medina F. Tratado de nutrición. Acción médica 2005.
67. Giovanelli G, Pagliarini E. Antioxidant composition of tomato products typically consumed in Italy. Italian Journal of Food Science, 21(3), (2009) 305–316.
68. González ML, Muñiz-Rodríguez P, Valls-Bellés V. Actividad antioxidante de la cerveza: estudios *in vitro* e *in vivo*. Centro de información Cerveza y Salud. 8:4-57 (2001).
69. Gorinstein S, Yamamoto K, Katrich E, Leontowicz H, Lojek A, Leontowicz M, Ciz M, Goshev I, Shalev U, Trakhtenberg S. Antioxidative properties of Jaffa sweeties and grapefruit and their influence on lipid metabolism and plasma antioxidative potential in rats. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 67(4), (2003) 907–910.
70. Goto S, Kim N, Hirakawa Y. Preformulation Studies on Drugs. En Swarbrick, J. y Boylan, J.C.: Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. Vol. 12. Marcel Dekker Inc. New York, 1995.
71. Gould R, Russell J, Barker ME. School lunch menus and 11 to 12 year old children's food choice in three secondary schools in England are the nutritional standards being met?. Appetite 2006; 46: 86-92.
72. Gray VB, Cossman JS, Powers EL. Stunted growth is associated with physical indicators of malnutrition but not food insecurity among rural school children in Honduras. Nutrition Research 2006; 26: 549-555.
73. Guía de alimentos funcionales. Instituto Omega 3, Sociedad Española de Nutrición Comunitaria y Confederación Española de Consumidores y Usuarios

74. Gupta S, Bains K. Traditional cooked vegetable dishes as important sources of ascorbic acid and b-carotene in the diets of Indian urban and rural families. *Food and Nutrition Bulletin* 27, (2006) 306–310.
75. Gupta S, Brains K. Traditional cooked vegetable dishes as important sources of ascorbic acid and  $\beta$ -carotene in the diets of Indian urban and rural families. *Food and Nutrition Bulletin* 27, (2006) 306-310.
76. Guthold R, Cowan MJ, Autenrieth CS, Kahn L, Riley LM. Physical activity and sedentary behavior among schoolchildren: a 34-country comparison. *J Pediatr.* 2010;157(1):43–49
77. Guzmán Loayza D, Chávez J. Estudio bromatológico del cladodio del nopal (*Opuntia ficus-indica*) para el consumo humano. *Rev. Soc. Quím. Perú* v.73 n.1 Lima ene./mar. 2007.
78. Haghenbeck JA. Iniciativa con proyecto de decreto por el que se reforman los artículos 115 de la ley general de salud y 49 de ley federal de protección al consumidor. Senado de la República. *Gaceta parlamentaria* 2005.
79. Halliwell B, Whiterman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol.* 142:231-255 (2004).
80. Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology.* 141:312-322 (2006).
81. Hamer M, Stamatakis E, Mishra G. Psychological distress, television viewing and physical activity in children aged 4 to 12 years. *Pediatrics.* 2009;123(5):1263–1268.
82. He M, Piche L, Beynon C, Harris S. Screen-related sedentary behaviors: children's and parents' attitudes, motivations, and practices. *J Nutr Educ Behav.* 2010; 42(1):17–25
83. Heim K E, Tagliaferro A R, Bobilya D J. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationship. *Journal of Nutritional Biochemistry,* 13(10), (2002) 572–584.

84. Hua yao, Weizheng Xu, Xianglin Shi, Zhuo Zhang. Dietary Flavonoids as Cancer Prevention Agents, *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 29:1, 1-31 (2011).
85. Huang D, Ou B, Hampsch-Woodill M, Flanagan JA, Prior RL. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 4337-44 (2002).
86. Huang D, Ou B, Prior R. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* 53 (6): 1841–56 (2005).
87. Hymavathi TV, Vijaya K. Carotene, ascorbic acid and sugar content of vacuum dehydrated ripe mango powders stored in flexible packaging material. *Journal of Food Composition and Analysis* 18 (2005) 181-192.
88. Ichikawa M, Ryu K, Yoshida J, Ide N, Kodera Y, Sasaoka T, et al. Identification of six phenylpropanoids from garlic skin as major antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, (2003) 7313–7317.
89. Illescas JL, Bacho O, Ferrer S. *Frutas y hortalizas: Guía práctica*. Editorial Mercasa. 2008.
90. Internacional Life Science Institute. Scientific concepts of functional foods in Europe. Consensus document. *Br. J. Nutr.* 1999; 81: S1–S27
91. Iswaldi I, Gómez-Caravaca AM, Arráez-Romana D, Uberos J, Lardón M, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. Characterization by high-performance liquid chromatography with diode-array detection coupled to time-of-flight mass spectrometry of the phenolic fraction in a cranberry syrup used to prevent urinary tract diseases, together with a study of its antibacterial activity. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 58: 34–41 (2012).
92. Jehn M, Brewis A. Paradoxical malnutrition in mother–child pairs: Untangling the phenomenon of over- and under-nutrition in underdeveloped economies. *Economics & Human Biology* 2009; 7: 28-35.



- 
93. Jiménez-Monreal AM, García-Diz L, Martínez-Tomé M, Mariscal M, Murcia MA, in press. Influence of cooking methods on antioxidant activity of vegetables. *J. Food Sci.* 2009, 74(3):H97-H103.
  94. Johnson I T. New approaches to the role of diet in the prevention of cancers of the alimentary tract. *Mutation Research*, 551(1–2), 9–28 (2004).
  95. Juarez M, Olano A, Morais F. *Alimentos funcionales*. Madrid: Ediciones FECYT, 2005.
  96. Kähkönen M P, Hopia A I, Vuorela H J, Rauha J P, Pihlaja K, Kujala T S, Heinonen M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3954–3962 (1999).
  97. Kala A, Prakash J. Nutrient composition and sensory profile of differently cooked green leafy vegetables. *International Journal of Food Properties* 7, (2004) 659-669.
  98. Kaliora AC, Dedoussis GVZ, Schmidt H. “Dietary antioxidants in preventing atherogenesis”, *Atherosclerosis*, 2006, 187, 1-17.
  99. Kaliora AC, Dedoussis GVZ, Schmidt H. Dietary antioxidants in preventing atherogenesis. *Atherosclerosis*, 2006, 187, 1-17.
  100. Kalt W. Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science*, 70(1), R11–R18 (2005).
  101. Katalinic V, Milos M, Kulisic T, Jukic M. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chem.* 2006, 94, 550– 557.
  102. Kelly B, Halford JC, Boyland EJ. Television food advertising to children: a global perspective. *Am J Public Health.* 2010;100(9):1730–1736)
  103. Kelvin DJ. Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochem. Soc. Symp.* 61:1-31 (1995).
  104. Koca N, Burdurlu HS, Karandeniz F. Kinetics of colour changes in dehydrated carrots. *Journal of Food Engineering* 2007; 78: 449-455.

105. Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE, Hilpert KF. Bioactive compounds in food: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am J Med.* 113:71s-88s (2002).
106. Krokida MK, Marinos-Kouris D. Rehydration kinetics of dehydrated products. *Journal of Food Engineering* 2003; 57: 1-7.
107. Kümpel Norgaard M, Brunso K. Families use of nutritional information on food labels. *Food Quality and Preference* 2009; 20: 597–606.
108. Kurilich A C, Jeffery E H, Juvik J A, Wallig M A, Klein B P. Antioxidant capacity of different broccoli (*Brassica oleracea*) genotypes using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28, (2002) 5053–5057.
109. Kwak NS, Jukes DJ. Functional foods. Part 1: the development of a regulatory concept. *Food Control* 2001; 12: 99-107.
110. La Torre A, Leandri A, Lolletti D. Comparison of health status between organic and conventional products. *Commun Agric Appl Biol Sci.* 2005.
111. Labuza TP y Hyman CR. Moisture migration and control in multi-domain foods. *Trends Food Sci. Technol.*, 1998. 9, 47-55.
112. Lachman L., Lieberman H.A. and Kaning J.L.: *The theory and practice of industrial pharmacy.* Lea and Febiger. Philadelphia, 1986).
113. Lampe J W. Health effects of vegetables and fruit: Assessing mechanisms of action in human experimental studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70(3), 475S–490S (1999)
114. Lavelli V y Scarafoni A. Effect of water activity on lycopene and flavonoid degradation in dehydrated tomato skins fortified with green tea extract. *Journal of Food Engineering* 110 (2012) 225–231.
115. Lavelli V, Scarafoni A. Effect of water activity on lycopene and flavonoid degradation in dehydrated tomato skins fortified with green tea extract. *Journal of Food Engineering* 110 (2012) 225-231.

116. Lavellia V, Scarafoni A. Effect of wateractivity on lycopene and flavonoiddegradation in dehydratedtomatoskinsfortified with green tea extract. *Food Eng* 110: 225-231 (2012).
117. Lee KW, Kim YJ, Lee HJ, Lee ChY. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of Agriculture Food and Chemistry* 2003; 51: 7292–7295.
118. Lee YY, Koo N, Min DB. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 3:21- 33 (2004).
119. Leong L P, Shui G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore market. *Food Chemistry*, 76, 69-75, (2002)
120. Leong LP, Shui G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore market. *Food Chemistry* 2002; 76: 69-75.
121. Lichtenthaler R, Marx F. (2005). Total oxidant scavenging capacities of common European fruit and vegetable juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(1), (2005) 103-110.
122. Lin TM, Durance TD, Scaman CH. Characteritaton of vacuum microwave, air and freeze dried carrot slices. *Food Research International* 1998; 31: 111-117.
123. Loyd V, Allen Jr. *International Journal of Pharmaceutical Compounding* 461 Vol.3 No.6 November/December 1999.
124. Lozano-Sánchez J, Segura-Carretero A, Menéndez J, Oliveras-Ferraros C, Carretani L, Fernández-Gutiérrez A. Prediction of Extra Virgin Olive Oil Varieties through Their Phenolic Profile. Potential Cytotoxic Activity against Human Breast Cancer Cells. *J. Agric. Food Chem.* 58: 9942–9955 (2010).
125. Lozoff B, De Andraca I, Castillo M, Smith JB, Walter T, Pino P. Behavioral and developmental effects of preventing irondeficiency anemia in healthy full-term infants. *Pediatrics* 2003; 112: 846-54.

126. Lundin L., Norton IT, Foster TJ, Williams MAK, Hermansson AM and Bergström E. Phase Separation in Mixed Biopolymer Systems, 2000 pp. 168-180, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, U.K.
127. MacIntyre U, Labadarios D, 2000. Chaper 6: Dietary intake: quantitative food frequency method. In: Labadarios, D. (Ed.), The National Food Consumption Survey (NFCS): Children Aged 1–9 Years, South Africa, 1999. Retrieved September 2006 from the Department of Health home page on the World Wide Web: <http://www.sahealthinfo.org/nutrition/foodconsumption.htm>.
128. MAPA. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. La alimentación en España. Secretaría General de Agricultura y Alimentación. Madrid 2001.
129. Marín E, Lemus R, Flores V, Vega A. La rehidratación de alimentos deshidratados. *Revista chilena de nutrición* 2006; 33.
130. Martí A, Moreno-Aliaga MJ, Zulet MA, Martínez JA. Avances en nutrición molecular: nutrigenómica y/o nutrigenética. *Nutrición Hospitalaria*. 2005; XX: 157-164.
131. Martí-Henneberg C. Nutrición en pediatría. En: Cruz M, ed. *Tratado de pediatría*. 8ª Edición. Madrid. Ergón. 2001; 57: 567-81.
132. Martínez A. *Nutrición en la infancia y en la adolescencia*. Universidad de Navarra. Facultad de Farmacia. 1997.
133. Mataix J. *Nutrición y alimentación humana*. Editorial Ergón. Vol I. cap 19. 2002.
134. Mazza G. *Alimentos funcionales. Aspectos bioquímicos y de procesado*. Ed. Acribia S.A. 1998.
135. McDougall GJ, Morrison IM, Stewart D, Hillman JR. Plant cell walls as dietary fibre: range, structure, processing and function. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 70, (1996) 133-150.
136. Mediyani M. Effect of functional food ingredients: vitamin E modulation of cardiovascular diseases and immune status in the elderly. *Am J Clin Nutr*. 71:1665S-1668S (2000).

137. Menéndez J, Vázquez-Martín A, Oliveras-Ferraros C, García-Villalba R, Carrasco-Pancorbo A, Fernández-Gutiérrez A, Segura-Carretero A. Analyzing effects of extra-virgin olive oil polyphenols on breast cancer-associated fatty acid synthase protein expression using reverse-phase protein microarrays. *International Journal of Molecular Medicine* 22: 433-439 (2008).
138. Mepba HD, Eboh L, Baningo DEB. Effects of processing treatments on the nutritive composition and consumer acceptance of some Nigerian edible leafy vegetables. Retrieved April 2008 from the African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development on the World Wide Web: <http://www.ajfand.net/vol.7>, (2007) n°1.html.
139. Michon C, Konaté K., Cuvelier G. and Launay B. Gelatin/carrageenan interactions in coil and ordered conformations followed by a methylene blue spectrophotometric method. *Food Hydrocolloids*. 2002. 16, 613–618.
140. Mielgaard M, Civille GV and Carr BT. 2006. Sensory evaluation techniques (4 th ed.) Berlin: CRC press. pp. 448.
141. Miller N J, Rice-Evans C, Davies M J, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*, 84, 407-412 (1993)
142. Miller N J, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science* 1993; 84: 407-412.
143. Monagas M, Bartolomé B, Gómez-Cordovés C. Updated knowledge of phenolic compounds in wine. *Crit. Rev. Food Sci.Nutr.*, 45: 85 -118. (2005)
144. Moñino M, Baladia E, Marques I, Miret F, Russolillo G, Farran A y cols. Criterios y parámetros básicos para la evaluación de alimentos candidatos a incluirlos en las recomendaciones de consumo de frutas y hortalizas “5 al día”: el Documento Director. *Actividad dietética* 2009; 13: 75-82.
145. Moschandreas J, Vissers MN, Wiseman S, van Putte KP, Kafatos A. Extra virgin olive oil phenols and markers of oxidation in Greek smokers: a randomized cross-over study. *European Journal of Clinical and Nutrition* 2002; 56: 1024–1029.

146. Mulando TM and Resurreccion AVA. Peanut Extract and Emulsifier Concentration affect Sensory and Physical Properties of Liquid Whitener. *Journal of Food Science*, 2006. 59 (2), 344- 349.
147. Naczek M, Shahidi F, "Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2006, 41, 1523-1542.
148. Ninfali P, Bacchiocca M. Polyphenols and antioxidant capacity of vegetables under fresh and frozen conditions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 2222–2226 (2003).
149. Norton IT and FRITH WJ. 2001. Microstructure design in mixed biopolymer composites. *Food Hydrocolloids* 15, 543–553.
150. Nyambaka H, Ryley J. Multivariate analysis of the sensory changes in the dehydrated cowpea leaves. *Talanta* 2004; 64: 23-29.
151. Obrenovich M.E., Nair N.G., Beyaz A., Aliev G., and Reddy V.P. The Role of Polyphenolic Antioxidants in Health, Disease, and Aging. *Rejuvenation Research*, 13, 631-643 (2010).
152. Okos MR, Narsimham G, Singh RK, Weitnauer AC, in: Heldman DR, Lund DB (Eds), *Handbook of Food Engineering*, Marcel Dekker, New York, 1992, pp. 437-562.
153. Olivares JL, Bueno M. Requerimientos nutricionales. En: Cruz M, ed. *Tratado de pediatría*. 9ª Edición. Madrid. Ergón. 2006; 11: 625-633.
154. Ortiz J, Ferruzzi MG, Tylor LS, Muer LJ. Interaction of environmental moisture with powdered green tea formulations: effect on catechin chemical stability. *J. Agric. Food Chem.* 2008. 56, 4068-4077.
155. Ortiz-Andrellucchi A, Peña Quintana L, Albino Beñacar A, Mönckeberg Barros F y Serra-Majem L. Child subnutrition, health and poverty, integral intervention programme. *Nutr. Hosp.* v.21 n.4 Madrid jul.-ago. 2006.
156. Ou B X, Huang D J, Hampsch-Woodill M, Flanagan J A, Deemer E K. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power

- (FRAP) assays: A comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(11), 3122–3128 (2002).
157. Ou B, Hampsch- Woodill M, Prior RL. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 4619-26 (2001).
158. Palanca V, Rodriguez E, Señorans J, Reglero G. Bases científicas de productos cárnicos funcionales con actividad biológica combinada. *Nutrición hospitalaria*. 2006; XXI: 199-202
159. Parker A, Bouenguer P and Kravtchenko TP. *Food Hydrocolloids: Structures, Properties and Functions*, 1994 pp. 307–312, Plenum Press, New York, NY.
160. Pascual-Anderson MR. *Microbiología alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas*. 2ª Edición. Editorial Díaz de Santos. Capítulos 30 y 34. Pág. 319, 337 y 339. Madrid. 1999.
161. Pellegrini N, Proteggente A, Annala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decoloration assay. *Free Radical in Biology and Medicine* 1999; 26: 1231-1237.
162. Peña L, Madruga D, Calvo C. Alimentación del preescolar, escolar y adolescente. Situaciones especiales: dietas vegetarianas y deporte. Guías prácticas sobre nutrición (II). *An Esp. Pediatr*. 2001; 54: 484-96.
163. Plum GW, Chambers S J, Lambert N, Bartolome B, Heaney RK, Wangatunga S, Aruoma OI, Halliwell B and Williamson G. Antioxidant actions of fruit, herb and spice extracts. *J. Food Lipids* 1996, 3, 171 –188.
164. Prior R L; Hoang H; Gu L; Wu X; Bacchiocca M; Howard L; Hampsch-Woodill M; Huang D; Ou B; Jacob R. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and other biological and food samples. *J. Agric. Food Chem*. 2003, 51, 3273–3279.

165. Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 10: 4290-302 (2005).
166. Prior RL. Standardized methods for the determination of Antioxidant Capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.* 2005; 53: 4290-4302.
167. Pulido R, Bravo ., and Saura-Calisto F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 48, 3396-3402 (2000).
168. Pulido R, Hernández-García M, Saura-Calixto F. Contribution of beverages to the intake of lipophilic and hydrophilic antioxidants in the Spanish diet. *European Journal of Clinical and Nutrition*, 2005; 57: 1275–1282.
169. Puupponen-Pimiä R, Nohynek L, Meier C, Kähkönen M, Heinonen M, Hopia A, Oksman-Caldentey KM. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *J. Appl. Microbiol.* 2001. 90 494-507.
170. Puupponen-Pimiä R; Nohynek L; Meier C; Kähkönen M; Heinonen M; Hopia A; Oksman-Caldentey KM . Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *J. Appl. Microbiol.* 90 494-507 (2001).
171. Ranganna S. *Manual of Analysis of Fruits and Vegetable Products.* McGraw-Hill 1977.
172. Rao A V, Agarwal S. Role of antioxidant lycopene in cancer and heartdisease. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(5), 563–569 (2000)
173. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, (1999) 1231–1237.
174. Reedy J, Krebs-Smith SM. Dietary sources of energy, solid fats, and added sugars among children and adolescents in the United States. *J Am Diet Assoc.* 2010;110(10):1477–1484.



175. Regez PF, Ab-Enene I, Mutinsumu, MN. Drnombrement de differents groupes de microorganismes par des milieux ~lectifs et srlectifs. *Microbiologie-Aliments-Nutrition*, 1987. 5(4) 303-12.
176. Reglero G. Alimentos funcionales: productos cárnicos. *Alimentación, Nutrición y Salud*. 2006; 13(3): 61-66.
177. Rice-Evans C, Miller N J, Bolwell P G, Bramley P M, Pridham J B. The relative antioxidant activity of plantderived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, 22, (1995) 375–383.
178. Roberfroid MB. Global view on functional foods: European perspectives. *Nutr Meb Ab Cardiovasc* 2001; 4: 20-23.
179. Roche O, Gilbertson MA, Phillips JC, Sparks R.S.J. The influence of particle size on the flow of initially fluidised powders. *Powder Technology* 2006; 166: 167-174.
180. Ros, E. Dieta mediterránea y enfermedad cardiovascular. *Hipertensión (Madr.)*. 2008. 25(1): 9-15.
181. Ross MM, Kolbash S, Cohen GM, Skelton JA. Multidisciplinary Treatment of Pediatric Obesity: Nutrition Evaluation and Management. *Nutr Clin Pract* August 2010 vol. 25 no. 4 327-334.
182. Rudnic E., Schwartz JB. Oral solid dosage forms. In: Gennaro AR., ed. *Remington: The science and practice of pharmacy*, 19th ed. Easton, PA: Mack Publishing Co., 1995; 1648.
183. Ruel MT, Minot N, Smith L. Patterns and determinants of fruit and vegetable consumption in sub-Saharan Africa: a multicountry comparison. Background Paper for the Joint FAO/WHO Workshop on Fruit and Vegetables for Health, September 1–3, 2004, Kobe, Japan. WHO, Geneva, Switzerland (2005).
184. Ryu K, Ide N, Matsuura H, Itakura Y. N-a-(1-Deoxy-DFructos-1-yl)-L-Arginine, an antioxidant compound identified in aged garlic extract. *Journal of Nutrition*, 131 (Suppl. 1), (2001) 972S–976S.

185. Sagar VR. Studies on cabinet drying and storage of ripe mango slices. Ph. D. Thesis, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi, 1995.
186. Salunkhe DK, Do JY y Bolin HR. Developments in technology and nutritive value of dehydrated fruits, vegetables and their products. *CRC Crit. Rev. Food Technol.*, November, 1973. 153-192.
187. Sánchez Muñiz FJ, Jimenez Colmenero F, Olmedilla B, editores. *Derivados cárnicos funcionales: estrategias y perspectivas*. Madrid: Fundación Española de la Nutrición. 2005
188. Sánchez-Moreno C. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci. Tech. Int.* 2002; 8: 121-137.
189. Sánchez-Moreno C. Review: Methods used to evaluate the free radical
190. Sangnarka A, Noomhorm A. Effect of particle sizes on functional properties of dietary fibre prepared from sugarcane bagasse. *Food Chemistry* 2003; 80: 221–229.
191. Sapru V. y Labuza T. Moisture transfer simulation in packaged cereal-fruit systems. *J. Food Engng.*, 1996. 27, 45-61.
192. Saura-Calixto F, Goñi I. Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. *Food Chemistry* 94 (2006) 442–447.
193. Schirm E, Tobi H, De Vries TW, Choonora I, De Jong-van Berg LTW. Lack of appropriate formulations of medicines for children in the community. *Acta Pediatr.* 2003;92:1486-9.
194. Schneider LCR, Sinka IC, Cocks ACF. Characterisation of the flow behaviour of pharmaceutical powders using a model die–shoe filling system. *Powder Technology* 2007; 173: 59-71.
195. Seal A, Prudhon C, *Assessing micronutrient deficiencies in emergencies: Current practice and future directions*, Geneva, United Nations System Standing Committee on Nutrition, 2007.
196. Seal A, Prudhon C. *Assessing micronutrient deficiencies in emergencies: Current practice and future directions*, Geneva, United Nations System Standing Committee on Nutrition, 2007.

197. Serrano J, Pupponen-Pimiä R, Dauer A, Aura AM, Saura-Calixto F. Tannins: current Knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Molecular Nutrition and Food Research* 53, (2009) S310-S329.
198. Shahidi F, “Functional foods: their role in health promotion and disease prevention”, *J. Food Sci.*, 2004, 69(5), R146-R149.
199. Shahidi F. Functional foods: their role in health promotion and disease prevention. *J. Food Sci.* 2004; 69: R146-R149.
200. Shitanda D, Wanjala NV. Effect of different drying methods on the quality of jute. *Drying Technology* 24, (2006) 95-98.
201. Siewert M, Dressman J, Brown C, Shah V, Williams R. FIP/AAPS guidelines for dissolution/*in vitro* release testing of novel/special dosage forms. *Dissolution Technol.* 10, 2003, 10–13, 15.
202. Singleton V L, Rossi J A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagent, *Am. J. Enol. Vitic.*, 16, (1956) 144-158.
203. Smith LC, Haddad L. How important is improving food availability for reducing child malnutrition in developing countries? *Agricultural Economics* 2001; 26: 191-204.
204. Somoza V. (2005). Review: Five years of research on health risks and benefits of Maillard reaction products: An update. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49, (2005) 663–672.
205. Staniforth JN. Particle size análisis y Powder flow. En Aulton M.E. (ed.): *Pharmaceutics. Science of dosage desing.* Churchill Livingstone. London. 1998.
206. Stanley-Wood NG. Particle characterization by size, shape and surface for contacted particles. En Stanley-Wood NG. (ed): *Enlargement and compaction of particulate solids.* Butterworths. London. 1983.
207. Stella V, Vall P, Albrecht P, Postaire E. Gliadin films. I: Preparation and *in vitro* evaluation as a carrier for controlled drug release *International Journal of Pharmaceutics* 121. 1995, 117-121.

208. Strlic M, Kolar J, Pihlar B, Rychly J, Matisova-Rychla L. Polym. Degrad. Stab. 72(1): 157-162 (2001)
209. Suárez L. Manual práctico de nutrición en pediatría. Capítulo 1. Editorial Ergón. Madrid. 2007.
210. Susan MT, Alejandro GM, Hallett FR and Britt IJ. Aging dynamics in gelatin gel microstructure. Food Hydrocolloids. 2003. 17, 503–513.
211. Svarovsky L. Powder testing guide methods of measuring the physical properties of bulk powders. Elsevier. Essex, 1987.
212. Tormo Carnicer R, Martín Martínez B. Nutrición en el primer año de vida. Tratamiento en gastroenterología, hepatología y nutrición pediátrica. Madrid. Edición Ergón, 2004; 519-551.
213. Triantis T, Papdopoulos K, Dimotikli D, Nikokavouras J. Evaluation of food antioxidant activity by photostorage chemiluminescence. Bau Fen Bil Enst Dergisi 2002; 4:30-33.
214. USP 30, 2007a. United States Pharmacopeia, chapter 701 pp. 276–277. USP 30, 2007b. United States Pharmacopeia, chapter 2040, The United States Pharmacopeial Convention, Rockville, MD, pp. 728–729.
215. USP. The 2002 United States Pharmacopeia 25/National Formulary 20. Rockville, MD. : The United States Pharmacopeial Convection, Inc., 2001; 2216-2218.
216. Uusiku NP, Oelofse A, Duodu KG, Bester MJ, Faber M. Nutritional value of leafy vegetables of sub-Saharan Africa and their potential contribution to human health: A review. Journal of Food Composition and Analysis 23 (2010) 499-509.
217. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M T, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 39(1), (2007) 44–84.
218. Van Poppel G, Goldbohm R A. Epidemiologic evidence for beta-carotene and cancer prevention. The American Journal of Clinical Nutrition, 62(6 Suppl), 1393S-1402S.) (1995).

219. Velioglu Y S, Mazza G, Gao L, Oomah B D. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4113–4117 (1998).
220. Venereo Gutiérrez JR. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cub Med Mil* 2002; 31: 126-133.
221. Venereo Gutiérrez, Justo R. “Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes”, *Rev Cub Med Mil*, Apr.-June 2002, vol.31, no.2, p.126-133. ISSN 0138-6557.
222. Vila Jato JL. *Tecnología Farmacéutica. Volumen I: Aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas*. Editorial Síntesis. 1997.
223. Vila Jato, JL. *Tecnología Farmacéutica. Vol. II, Formas Farmacéuticas*. 1997.
224. Villanueva MJ, Tenorio MD, Sagardoy M, Redondo A, Saco MD. Physical chemicals, histological and microbiological changes in fresh green asparagus (*Asparagus officinalis*, L) stored in modified atmosphere packaging. *Food Chem*. 91, (2005) 609–619.
225. Voigt R. *Tratado de Tecnología Farmacéutica. Capítulo 7*. Editorial Acribia. 1982.
226. Wardrop J, Ayres JW. Bioequivalence of a novel amoxicillin/clavulanate chewable tablet formulations. *Res. Commun. Pharmacol. Toxicol.* 2 (3), 1997, 175–191.
227. Washington C. *Particle size analysis in pharmaceuticals and other industries. Theory and practice*. Ellis Horwood. Chichester. 1992.
228. Washington, C. *Particle size analysis in pharmaceuticals and other industries. Theory and practice*. Ellis Horwood. Chinchester, 1992.
229. Watzl B, Bub A, Briviba K, Rechkemmer G. Supplementation of a low carotenoid diet with tomato or carrot juice modulates immune functions in healthy men. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 47(6), (2003) 255–261.

- 
230. Wells JI, Aulton ME. Preformulation. En Aulton, M.E. *Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Desing*. Churchill Livingstone. London, 1988.
231. Wickham LD, Wilson LA. Quality changes during long term storage of cassava roots in moist media. *Tropical Sci.*, 28(2), 1998. 79-86.
232. Williamson G, Carughi A. Polyphenol content and health benefits of raisins. *Nutr Res.* 2010 Aug;30 (8):511-9.
233. Wong C C, Li H B, Cheng K W, Chen F. A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem.* 2006, 97, 705–711.
234. Yadav S K, Sehgal S. Effect of home processing on ascorbic acid and b-carotene content of spinach and amaranth leaves. *Plant Foods for Human Nutrition*, 47, (1995) 125–131.
235. Zhang D, Hamauzu Y. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chemistry*, 88(4), 503–509 (2004).
236. Zhang M, Tang J, Mujumdar AS, Wang S. Trends in microwave related drying of fruits and vegetables. *Trends in Food Science & Technology* 17 (2006) 524-534.).

