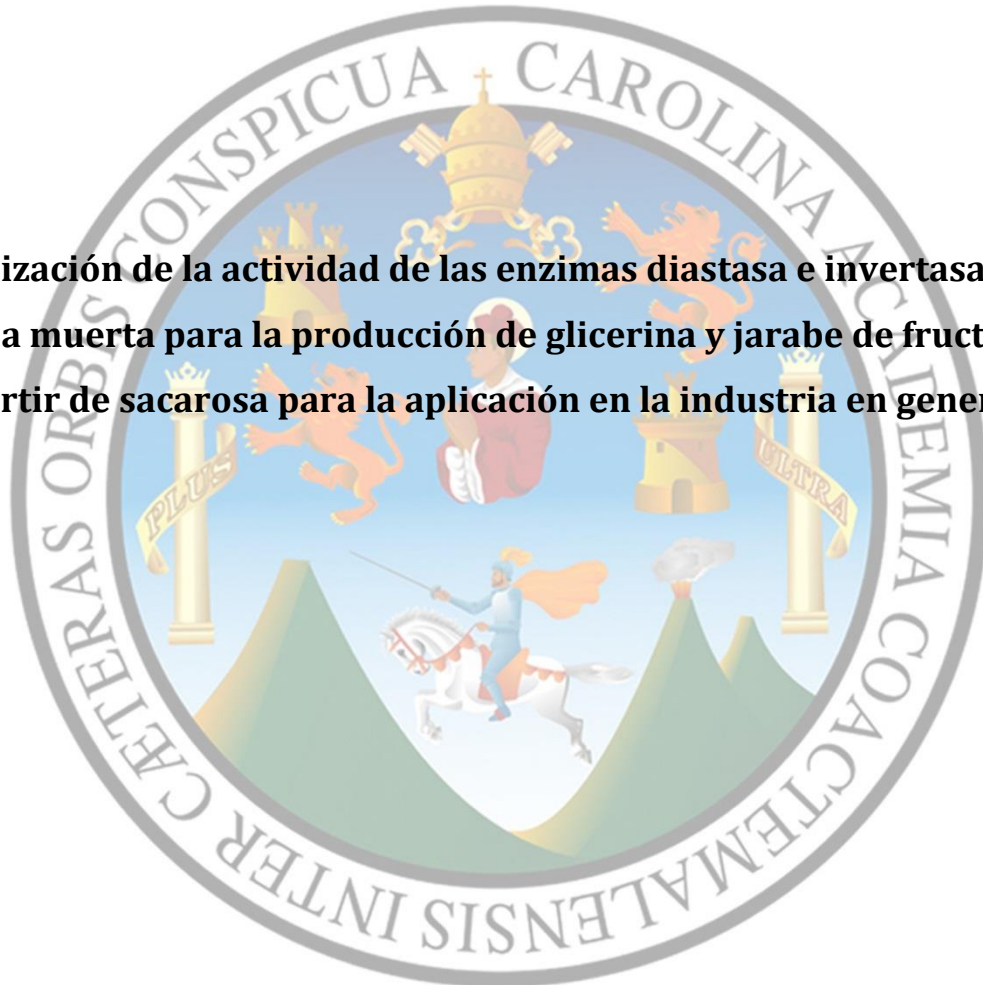


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

“Utilización de la actividad de las enzimas diastasa e invertasa de la abeja muerta para la producción de glicerina y jarabe de fructosa a partir de sacarosa para la aplicación en la industria en general”



Estephania Liska de León

Karen Elizabeth Rodríguez Cisneros

Guatemala, Abril de 2017

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**“Utilización de la actividad de las enzimas diastasa e invertasa de la
abeja muerta para la producción de glicerina y jarabe de fructosa a
partir de sacarosa para la aplicación en la industria en general”**

Seminario de Investigación

**Presentado por
Estephania Liska de León**

Karen Elizabeth Rodríguez Cisneros

Para optar al título de Químicas Farmacéuticas

Guatemala, Abril de 2017

Junta Directiva

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda	Decano
M.A. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza	Secretaria
MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo	Vocal I
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	Vocal III
Br. Andreina Delia Irene López Hernández	Vocal IV
Br. Carol Andrea Betancourt Herrera	Vocal V

AGRADECIMIENTOS

A Dios

Porque sin Él nada de esto hubiera sido posible. Por ser la guía a lo largo de nuestras vidas y por hacer realidad este sueño anhelado, dándonos la oportunidad de culminar nuestra carrera.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala

Por abrirnos sus puertas hacia el aprendizaje y por ser el centro de enseñanza que inculcó en nosotras la responsabilidad, el trabajo, la dedicación y formarnos como profesionales integrales.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

Por ser nuestro segundo hogar y habernos permitido pasar dentro de sus aulas viviendo buenos y dificultosos momentos, brindándonos todos los conocimientos y experiencias que la carrera conlleva, preparándonos para lo que viene.

Al Departamento de Farmacia Industrial

Por apoyarnos y abrirnos sus puertas permitiéndonos realizar parte de nuestro Trabajo de Investigación en sus instalaciones.

A nuestro Asesor Lic. Julio Gerardo Chinchilla Vettorazzi

Por su gran apoyo, comprensión, esfuerzo y dedicación. Quien, con sus conocimientos, paciencia y su motivación fue nuestra guía en la realización de nuestra fase experimental y Seminario.

A nuestra Revisora Licda. Lucrecia de Haase

Por su apoyo, paciencia y revisión de este Trabajo de Investigación.

A nuestras familias

Por todo el apoyo brindado a lo largo de nuestra vida y en este importante proyecto.

DEDICATORIA

Karen Elizabeth Rodriguez Cisneros

A Dios

Por ser mi amigo fiel, por tu misericordia y gran amor. Por darme la vida e iluminarme a lo largo de mi carrera universitaria, dándome la sabiduría para culminar esta etapa de mi vida.

A mis Padres

Por ser los pilares y ejemplos a seguir más importantes de mi vida, por su apoyo incondicional y ejemplo de lucha contra los obstáculos que se presentan enseñándome a enfrentarlos de manera positiva, respetando los valores y principios que me fueron inculcando desde mi infancia. Gracias por siempre guiarme por el camino correcto. Gracias por todo el amor, comprensión, esfuerzo, sacrificio y apoyo que me han brindado para ser quien soy y para lograr culminar mi carrera. Los amo.

A mis Hermanas

Evelyn e Ingrid, por ser parte importante de mi vida y estar ahí. Gracias a ustedes por la ayuda y apoyo incondicional que me brindaron, por soportarme en mis malos ratos, por compartir conmigo mis alegrías y tristezas y por escucharme sin muchas veces entenderme. Que este triunfo sea de ejemplo para su futura formación.

A mi Familia

A mis abuelitos, tíos y primos, por brindarme todo su amor, comprensión y apoyo. Muchas gracias por siempre estar pendientes de mí y darme ánimo y palabras de aliento en todo momento.

A mis Amigos

Los llevo en mi corazón y nunca podré terminar de agradecerle a Dios y a la vida el privilegio de contar con su cariño, apoyo incondicional y comprensión. Gracias por brindarme su amistad y por tantas experiencias inolvidables, quiero que sepan que son una parte importante de mi vida.

Al Hospital Nacional Elisa Martínez, Puerto Barrios, Izabal

Por haberme permitido realizar mi EPS, por todos los conocimientos y experiencias adquiridas y por permitirme crecer no solo como profesional sino también como persona.

DEDICATORIA

Estephania Liska de León

A Dios

Por darme la vida, la sabiduría y la fortaleza para luchar día a día por mis sueños y anhelos. Por estar siempre presente en los momentos de dificultad.

A mi Madre

Por ser una guía y un ejemplo de mujer. Gracias por brindarme un apoyo incondicional en cada etapa de mi vida y por estar a mi lado para superar los obstáculos. Por el amor, el sacrificio y enseñarme a luchar por lo que deseo alcanzar en la vida.

A mi Padre

Por haberme apoyado en poder completar este trabajo y por sus enseñanzas a lo largo de mi vida.

A mis Hermanos

Aracely y Cecilia, por ser consejeras sabias y mis segundas mamás. Jarmila y Diego por ser mis compañeros de bromas y aventuras. A Milagro y Andrea por haberme dado lecciones de vida. A todos ustedes muchas gracias por que cada uno se convirtió en un maestro en mi camino y han sido mis ejemplos de vida. Gracias por siempre protegerme.

A mis sobrinos

Sebastián y María Rene por ser luz y alegría en mi vida. Gracias por su cariño sincero.

A mis Abuelitos

Por darme su amor, apoyo y estar al tanto de mis logros.

A mis Amigos

Por haberme dado una amistad sincera e incondicional. Por estar presentes tanto en las alegrías como en las tristezas. Ustedes son parte importante de mi vida y la han hecho más divertida.

A Job Alvizurez

Por ser mi mejor amigo. Por ser incondicional, sincero, leal y apoyarme en mis momentos difíciles, brindarme tu cariño y siempre creer en mí.

A la familia Alvizurez Morales

Por adoptarme como un miembro más de su familia y haberme ayudado en momentos de dificultad. Gracias por su amistad y su afecto hacia mí.

INDICE

1. RESUMEN	0
2. INTRODUCCIÓN	3
3. ANTECEDENTES.....	4
3.1 La Abeja	4
3.1.1 Anatomía de la abeja.....	4
3.2 Enzimas de la abeja que interfieren en la degradación de azúcares.....	11
3.2.1 Invertasa	11
3.2.1 Diastasa (α - y β -amilasa)	12
3.3 Azúcares y sus compuestos de degradación.....	13
3.3.1 Sacarosa	13
3.3.2 Fructosa.....	13
3.3.3 Glucosa.....	14
3.3.4 Glicerina	15
3.4 Jarabe Simple	18
3.4.1 Características de un jarabe:.....	18
3.4.2 Pruebas aplicados a los jarabes:.....	20
3.5. Determinación de azúcares reductores y totales:	22
3.5.2 Determinación cuantitativa de fructosa, sacarosa y glicerina.....	23
3.6 Productos Terminados	24
3.6.1 Jarabe de Acetaminofén	24
3.6.2 Crema Humectante.....	24
3.6.3 Jalea de Frutas	25
4. JUSTIFICACIÓN.....	26
5. OBJETIVOS	28
5.1 General.....	28
5.2 Específicos.....	28
6. HIPÓTESIS.....	29
7. MATERIALES Y MÉTODOS	30

7.1 Universo	
7.2 Muestra.....	30
7.3 Recursos Humanos e institucionales.....	30
7.4 Materiales	31
7.4.1 Reactivos.....	31
7.4.2 Cristalería	31
7.4.3 Equipo	32
7.4.4 Materia Prima	32
7.5 Métodos.....	33
7.5.1 Método de Fehling:.....	33
7.5.2 Control de calidad de Materias Primas.....	35
7.5.3 Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).....	46
7.5.3.1 Cuantificación de las Muestras.....	46
7.5.4 Realización del Jarabe simple	47
7.5.4.3 Adición de las enzimas diastasa e invertasa al jarabe.....	47
7.5.5 Reactivo de Benedict para la identificación cualitativa de azúcares reductores.....	48
7.5.6 Preparación productos para la industria.....	48
7.5.7 Evaluación de estabilidad aplicada a productos.....	51
7.5.9 Análisis estadístico	53
7.5.10 Prueba de medición del grado de satisfacción de productos terminados... ..	54
8. RESULTADOS	55
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	60
10. CONCLUSIONES.....	64
11. RECOMENDACIONES.....	65
12. ANEXOS.....	66
13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	115

1. RESUMEN

En la investigación se determinó la capacidad enzimática de la diastasa e invertasa, presentes en las glándulas hipofaríngeas de las abejas, para convertir la sacarosa en fructosa y glicerina; utilizando abejas molidas, introducidas en jarabe de sacarosa.

Se elaboraron 15 jarabes a base de sacarosa y agua, los cuales fueron divididos en grupos de cinco. Cada grupo consistía en cinco concentraciones diferentes de abejas (5g, 10g, 15g, 25g y 50g) y una muestra control. Cada uno de los grupos fue sometido a una temperatura diferente.

Las muestras de jarabe se analizaron de manera cualitativa con el reactivo de Felingh, para determinar si existía presencia o no de azúcares reductores (fructosa). En base a esto, se concluyó que las muestras sometidas a una temperatura de 45°C por ocho días, reaccionaron mejor que las demás. Además, dentro de este grupo de muestras, las concentraciones más eficientes fueron: 10g, 25g y 50g de abejas.

Se determinó también el porcentaje de glucosa, fructosa, sacarosa y glicerina de las tres muestras anteriores por medio de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC por sus siglas en inglés). Se observaron resultados positivos a la formación de glicerina en las muestras, con porcentajes de 0.08450% (muestra de 10g), 0.09120% (muestra de 25g) y 0.04853% (muestra de 50g) y una disminución en la cantidad de sacarosa, glucosa y fructosa de las mismas relacionada con el control.

A partir de la concentración de 25g de abejas (seleccionada por obtener mejor resultados en la formación de glicerina), se realizaron tres productos: jarabe de acetaminofén, crema humectante y jalea de naranja. La materia prima utilizada para la formulación de los productos, fue evaluada conforme a los análisis recomendados por la USP XXXII y la base de sacarosa utilizada para el jarabe fue sometida a proceso de esterilización (por medio de autoclave), dando como resultado el cumplimiento de las mismas. Posterior a esta evaluación, los productos finales fueron sometidos a un estudio de estabilidad acelerada (análisis fisicoquímicos y microbiológicos). Por ultimo a su aceptación por una muestra de consumidores.

De estos productos, el jarabe de acetaminofén y la crema humectante cumplieron los parámetros de evaluación durante los seis meses de la estabilidad acelerada. La jalea de naranja no cumplió con los parámetros microbiológicos a los dos meses del estudio.

Por tanto, en la investigación se determinó que las enzimas de las abejas previamente mencionadas, si generan glicerina y su producción es más eficiente a una temperatura de 45°C y una concentración de 25 gramos de abejas. También los productos formulados a partir del jarabe de sacarosa, fructosa y glicerina, son aceptados por los consumidores, más la jalea de naranja, deberá de tener una fecha de caducidad más próxima que el jarabe de acetaminofén y la crema humectante.

2. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la mayor parte de glicerina producida es un subproducto de la fabricación del jabón por medio de la saponificación de grasas animales y vegetales con soda cáustica (Díaz, 2003).

Los usos de la glicerina en la industria son numerosos, entre los cuales se puede mencionar la producción de alimentos, productos farmacéuticos y la industria cosmética sobre todo en la producción de dentífrico (Díaz, 2003).

La desventaja de los métodos actuales para la obtención de glicerina es que se debe de utilizar otros procesos adicionales para poder extraerla y purificarla, para que de esta manera sea adecuada para el consumo humano.

Esta investigación considera el uso de abejas y sus enzimas para la obtención de una mezcla de glicerina y fructosa.

La abeja melífera tiene glándulas salivales posicionadas en la cabeza y en el tórax. Estas contienen las enzimas diastasa e invertasa. Estas enzimas realizan la transformación del néctar y los mielitos en la miel. Entre estas transformaciones se encuentra la de sacarosa en fructosa y glicerina (Llorente, 2014).

Este proceso enzimático permitiría la obtención de una mezcla de glicerina y fructosa, que es edulcorante y espesante al mismo tiempo debido a la combinación de las dos sustancias. Los residuos de sacarosa serían utilizados al igual que la fructosa como edulcorante, por lo que ninguno de los componentes tendría que pasar por un proceso de separación, brindando así una opción viable para la obtención de glicerina y fructosa para uso industrial en general.

3. ANTECEDENTES

3.1 La Abeja

Las abejas son insectos del orden insecto de los Hymenópteros, llamados así por tener cuatro alas membranosas; pertenecen al género *Apis* y especie *mellifera*. Son uno de los grupos más comunes de insectos, de gran importancia ecológica y económica gracias a sus hábitos alimenticios. La visita a las flores en busca de néctar y polen tiene como consecuencia la polinización de un gran número de plantas de interés para otros organismos (Nates, 2005).

3.1.1 Anatomía de la abeja

En esta sección se enfatizará en la anatomía de la abeja involucrada en la actividad enzimática de la diastasa e invertasa, para tener un conocimiento más completo de la anatomía en general de la abeja, ver la sección de anexos.

3.1.1.1 Anatomía Externa:

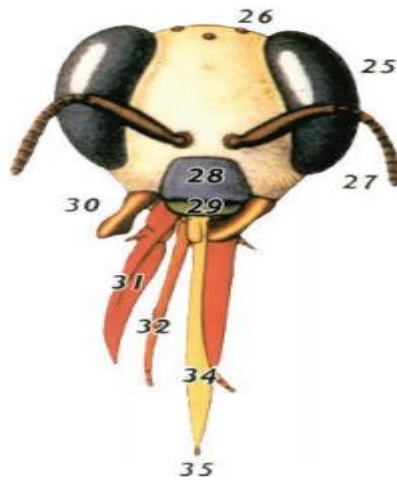
a. Cabeza

La cabeza tiene forma hexagonal en las reinas, triangular en las obreras y circular en el zángano; contiene los órganos de los sentidos: dos ojos compuestos, uno a cada lado de la cabeza y tres ojos simples (ocelos), ubicados en la parte superior de la cabeza; un par de antena de segmentos muy flexibles con una articulación como un codo de humano y aparato bucal.

- **Boca:** Es adaptada a la función de lamer y succionar y consiste de la probóscide (a veces llamada lengua o glosa) con dos pares de maxila y labio cada uno con un par de palpo, y dos mandibulares (que se abre a lado) y encima un labro. Cuando la abeja se encuentra en

reposo, todo este complejo bucal se halla replegado debajo de la cabeza y tórax.

Figura 1: Estructura de la cabeza



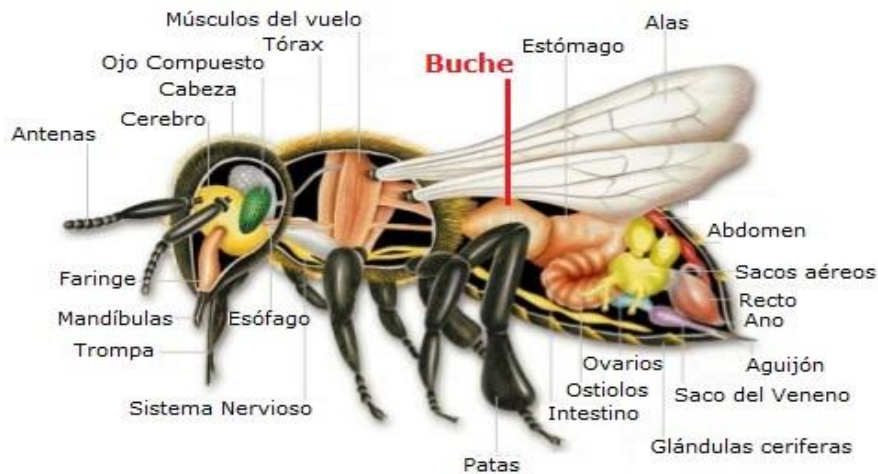
Fuente: Islapro, 2004

25. Ojo compuesto 26. Vértice- Ocelos 27. Antena 28. Fosa 29. Labro 30. Palpo del maxilar 31. Ala del maxilar 32. Palpo labial/glosa
35. Labella o botón.

3.1.1.2 Anatomía Interna

Los diversos órganos de la abeja trabajan coordinadamente para cumplir una función específica. La mayoría están en el abdomen.

Figura No.2: Anatomía interna de la abeja



Fuente: Islapro, 2004

a. Sistema Digestivo

El sistema digestivo comienza con la boca. Esta abre en la cavidad de la bomba de succión, y continua con el esófago que pasa por el cuello y tórax y se expande en un saco fino, localizado en la parte anterior del abdomen, el estómago o saco de néctar. En este la abeja carga el néctar, o agua, del campo a la colonia. Le sigue al saco de néctar el proventrículo, un canal angosto y muscular. Luego del proventrículo sigue el ventrículo, o estómago propio. Siguiendo al ventrículo está el intestino, que se divide en dos áreas intestino anterior e intestino posterior o recto. Este último abre al ano (JCYL, 2002).

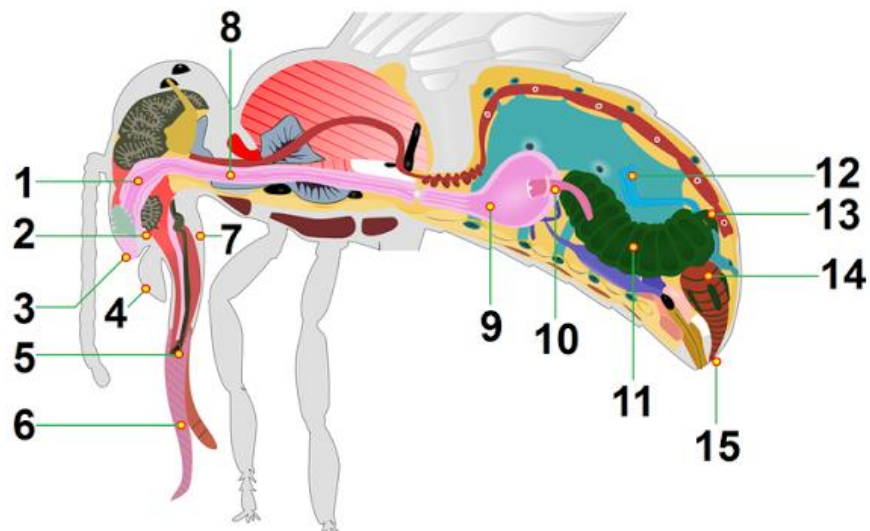
El esófago es un tubo muscular, por donde el alimento es movido por ondas musculares que se mueven anteroposteriormente. En el saco de miel la abeja carga y almacena alimento. El proventrículo sirve como aparato regulador del alimento que entra en el ventrículo. La parte anterior del proventrículo que da al saco de néctar tiene una válvula en forma de X. Mediante esta válvula, sumamente muscular, la abeja puede selectivamente, remover el

polen del néctar o miel y pasarlo al ventrículo. La parte anterior del ventrículo tiene una válvula que evita la regurgitación de material del estómago al saco de miel. Las sustancias digeridas pasan por la membrana peritrófica, la cual es selectiva, y se mezclan con la hemolinfa. El intestino de la abeja es relativamente corto, su parte anterior y posterior o recto tienen como función remover agua y materiales de desperdicio. El recto sirve a su vez como almacén de productos de desecho (JCYL, 2002).

Aunado al aparato digestivo encontramos tres tipos de glándulas de secreción interna. Las glándulas labiales o llamadas también salivales son dos pares, un par está colocado en posición postcerebral, su forma es de racimo, su conducto desemboca en el del segundo par o torácicas. El colector de ambas desemboca en la superficie dorsal del labio inferior. Las glándulas faríngeas o supracerebrales están destinadas a la elaboración de la Jalea Real, de la cual se nutren las larvas reales de la reina (Saldivar, 1979).

El zángano y la reina las tienen atrofiadas y en la obrera alcanzan su mayor desarrollo y producción a partir de los 6 días de nacida manteniéndose hasta 10-15 días en plena actividad. Las glándulas mandibulares, se hallan situados en la cabeza, su forma es de pera, se supone que sirven para reblandecer la cera y para facilitar la digestión del polen (Saldivar, 1979).

Figura No.3: Sistema Digestivo



Fuente: Corona Apicultoras, 2013

1 = Apertura de la Boca 2 = labio inferior (labrum) 3 = labio superior (Labio) 4 = Mandíbula 5 = glándula salival 6 = lengua 7 = mandíbula 8 = Esófago 9 = buche 10 = Válvula 11 = intestino medio (estómago) 12 = tubos de Malpighi 13 = Intestino delgado 14 = Recto 15 = Ano.

b. Sistema glandulares

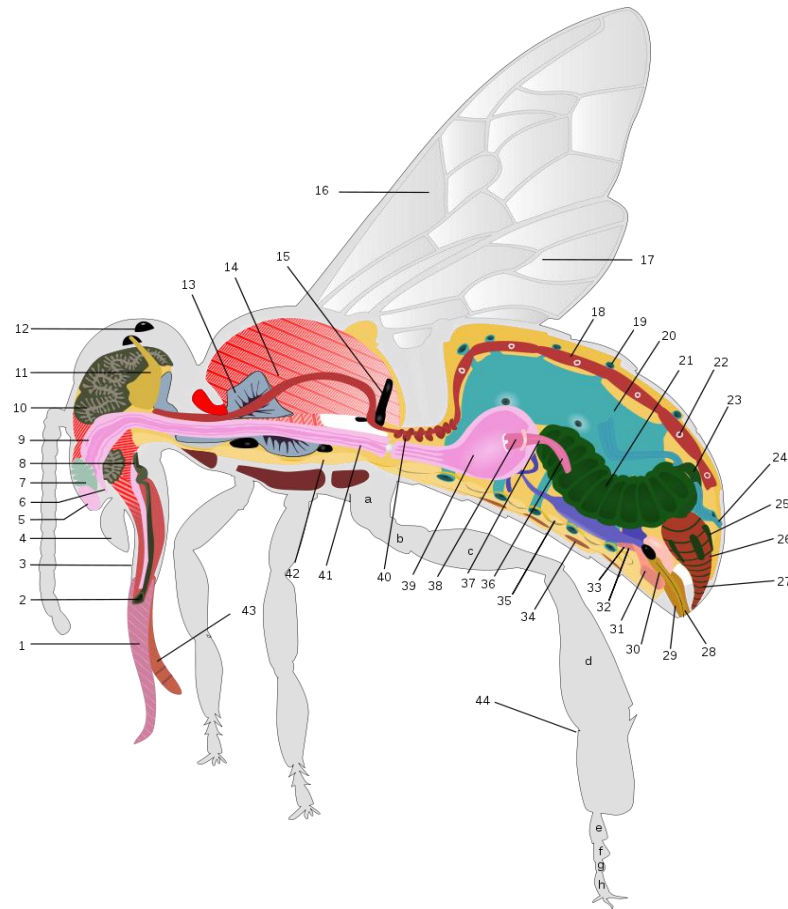
Feromonas son producidas en glándulas con ductos abiertas hacia afuera del cuerpo. Ejemplos son las mandibulares, odoríferas de Nasanof, dorsal glándulas del abdomen. Otra glándula tiene productos Hipofaríngeas (jalea real), salivarías (enzimas para digestión de comida y transformación de la cera), cerera (la cera). Hay también glándulas que producen hormonas (glándulas endocrinas): El cerebro produce: 1. Hormonas de juventud y 2. Hormonas de cerebro que son señales para las células epidermis del esqueleto durante metamorfosis en conjunto con la glándula protórax y su producto ecdisoma que tienen el mensaje para la próxima etapa (Food 4 Farmers, 2010).

c. Glándulas hipofaríngeas

Sólo están presentes en las abejas obreras. Son un par de estructuras localizadas en la parte media de la cabeza, a cada lado de la faringe. Sus vueltas recubren totalmente la cara anterior del cerebro, y cuando se extienden llegan a sobrepasar un cm de longitud. Su tamaño y actividad varían conforme a la edad y función de las obreras.

Cada glándula consiste en un racimo de alvéolos sujetos por delicados canales a un ducto excretor. Los ductos de estas glándulas que producen la fracción proteica de la jalea real desembocan separadamente en la parte distal de la placa hipofaríngea (Nájera, 2010).

Figura No.4: Estructura interna de la abeja



Fuente: Corona Apicultoras, 2013.

1. Lengua
2. Probóscide, orificio del conducto excretor de la glándula de la mandíbula posterior
3. Maxilares, mandíbula inferior
4. Mandíbula superior
5. Labio superior
6. Labio inferior
7. Glándula maxilar superior
8. Glándula de la mandíbula posterior
9. Glándula faríngea
10. Ojo Compuesto
11. Cerebro
12. Ojos simples u ocelos
13. Glándulas Salivares
14. Músculos torácicos de las alas
15. postfragma, Frenos de vuelos
16. Alas anteriores
17. Alas posteriores
18. Tubos del Corazón o aorta
19. Estigmas
20. Saco aéreo
21. Intestino medio
22. Ventrículos del corazón
23. Intestino delgado
24. Glándula de nasanoff
25. Glándulas rectales
26. Bolsa rectal
27. Ano
28. Funda del Aguijón
29. Bolsa del aguijón
30. Glándulas del veneno
31. Arcos del canal del aguijón
32. Pequeña glándula
33. Vesícula Seminal
34. Glándulas de la cera
35. Ganglios abdominales
36. Válvula Intestinal o tubo de la válvula
37. Embudo de válvula intestinal o intestino medio
38. Entrada del estómago o copa
39. Buche o bolsa de la miel
40. Curva de la aorta
41. Esófago, tubo digestivo
42. Fibra nerviosa, cordón neuronal
43. Mandíbula, palpos labiales
44. Cepillo de polen, metatarso.

3.2 Enzimas de la abeja que interfieren en la degradación de azúcares

Las abejas obreras muestran una elevada eficacia en la digestión del alimento ingerido, que consta de néctar y polen. Ello queda reflejado en la producción de enzimas tales como sacarosa o amilasa, en las glándulas hipofaríngeas y salivales, que digieren los carbohidratos, y asimismo en la presencia de los enzimas proteolíticos en el intestino, utilizados básicamente para la degradación de las proteínas del polen. La producción de estos enzimas depende en buena medida de la actividad de las obreras. En las abejas jóvenes (nodrizas), las glándulas hipofaríngeas producen mayormente jalea proteica, pero las abejas de más edad (pecoreadoras) modifican su actividad de síntesis, produciendo en especial enzimas de digestión de los hidratos de carbono. La amilasa y la sacarosa degradan los hidratos de carbono complejos, simplificándolos en sus monómeros, mientras que la glucosa-oxidasa contribuye a la buena conservación de la miel, al producir pequeñas cantidades de peróxido de hidrógeno. Estos carbohidratos también se encuentran en la miel almacenada en los panales (Hrassnigg, 2006).

Las enzimas son entre los más interesantes e importantes componentes de la miel, no porque ellos tengan un significado nutricional en la dieta humana, sino porque ellas juegan una parte vital en la transformación de miel, a partir del néctar de las plantas. Las enzimas son sensibles al calor y un nivel extra-bajo puede indicar que la miel ha sido sobrecalentada.

Las enzimas más importantes, desde el punto de vista alimentario son: invertasa, glucosa-oxidasa y α y β amilasas. La catalasa y fosfatasa ácida, también se encuentran presentes en la miel (Enríquez; Eunice & Maldonado, Carlos; 2008).

3.2.1 Invertasa

La invertasa (beta-D-fructofuranosidasa, sacarasa, fructohidrolasa), es la enzima encargada de catalizar la hidrólisis de sacarosa, esta enzima se encuentra presente en las glándulas hipofaríngeas de la abeja de la miel (*Apis mellifera*), la hidrólisis genera una mezcla equimolar de glucosa y fructosa, esta es tan dulce como la sacarosa debido al alto grado de dulzura de la fructosa, lo que indica un

incremento del contenido de azúcar sin producir cristalización, así una de las aplicaciones comerciales más importantes de la invertasa es la producción de azúcares no cristalizables. Debido a su naturaleza higroscópica, el azúcar invertida es usada como humectante en la manufactura de dulces de centro suave.

Esta enzima también es usada en la degradación de azúcares que serán objeto de fermentación, creación de mieles artificiales. El único inconveniente es el alto valor de producción de esta enzima, la cual en su mayoría es extraída de bacterias, pero estas poseen muchos inconvenientes como la poca estabilidad frente a cambios de pH o temperatura. La actividad enzimática de la invertasa depende del pH, siendo su óptimo de 4.5 a 5.0, y de la temperatura que puede variar de 25°C a 55°C; no debe agregarse a productos con más de 65°C ni a aquellos con más de 20% de alcohol (bombones con relleno), pues la enzima es inactivada.

3.2.1 Diastasa (α - y β -amilasa)

La diastasa (α -amilasa) es una de las enzimas presentes en la miel formada por las glándulas hipofaríngeas de las abejas y se encuentra en pequeñas proporciones en el polen. Esta enzima presenta mayor sensibilidad al calor que la invertasa (responsable por la transformación de la sacarosa en glucosa y fructosa), siendo recomendada para validar la calidad de la miel (Enríquez; Eunice & Maldonado, Carlos; 2008).

Su relevancia principal, es que es muy sensible al calentamiento. Bajos niveles de amilasa en la miel pueden ser usados como un indicador que la miel ha sido sobrecalentada. Varios autores coinciden en mencionar que esta enzima es sensible al calentamiento de la miel, sufre degradación con el tiempo de almacenaje y varía entre los diversos tipos de mieles de acuerdo a algunos factores como: el estado fisiológico de la colonia, la abundancia de néctar y su contenido de azúcar, la edad de las abejas y el consumo de polen.

La alfa-amilasa provee de fragmentos menores que pueden ser utilizados por la enzima beta-amilasa. La enzima alfa-amilasa requiere de un activador como, por ej., cloruro de sodio. Es sensible a una acidez elevada y se vuelve inactiva a pH 3.3 o a pH menor a 0°C por 15 min. El pH óptimo de acción está dentro del rango 5-7, siendo de 6.5 para la alfa-amilasa bacteriana y pancreática. La enzima es resistente al calor, pues a 70°C conserva un 70% de su actividad. Actúa sobre almidones crudos y gelatinizados.

La beta-amilasa no necesita de activador para actuar, pero es menos estable al calor, inactivándose a 70°C por 15 min. El pH óptimo de la beta-amilasa es de 4.5 (Soto, 2008).

3.3 Azúcares y sus compuestos de degradación

3.3.1 Sacarosa

Es un disacárido constituido por una molécula de fructosa y otra de glucosa presente en la miel representa en promedio de un 2-3% de los carbohidratos presentes. Estos valores altos están relacionados con la colecta prematura de la miel, donde la sacarosa no fue convertida en glucosa y fructosa por acción de la invertasa (Enríquez; Eunice & Maldonado, Carlos; 2008).

3.3.2 Fructosa

La fructosa o levulosa es un azúcar simple con fórmula química $C_6H_{12}O_6$, similar a la de la glucosa; ambas se reducen fácilmente a sorbitol tanto *in vitro* como *in vivo*; la fructosa difiere por la presencia de un grupo ceto unido al carbono 2 de la molécula, en tanto la glucosa presenta un grupo aldehído en el carbono 1. Los productos principales de su metabolismo en la vía glucolítica son: glucosa, glucógeno, lactato y piruvato; otros en menor cantidad son oxidados a bióxido de carbono, cuerpos cetónicos o convertidos a triacilglicerol.

Al igual que la sacarosa, se encuentra en el grupo de edulcorantes nutritivos reconocidos por la FDA (Food and Drug Administration). Estos edulcorantes

tienen propiedades funcionales de acuerdo a sus características físicas (cristalización, viscosidad), microbiales (preservación, fermentación) y químicas (caramelización, antioxidante). Ambos azúcares proveen de 4 kcal/g; sin embargo, una de las características principales es su poder edulcorante de 173, en tanto para la glucosa es de 74 y de 100 para la sacarosa, además de que presenta sinergia con otros edulcorantes. Entre sus principales fuentes naturales se encuentran las frutas y la miel que incluso puede contener hasta 50% de este azúcar y entre los alimentos industrializados se encuentran las bebidas carbonatadas, cereales, hamburguesas, salsa de tomate, mole, mermeladas, jugos y frutas en almíbar (Pérez, 2007).

En el mundo, la mayor parte de la fructosa se obtiene de la hidrólisis del almidón de maíz a glucosa seguido por la isomerización de glucosa a fructosa, sin descartar lo que se produce de otras fuentes ricas en carbohidratos, aunque la azúcar de caña continua siendo el edulcorante de mayor preferencia, hasta mediados de los 90 se apreció una tendencia de su sustitución por otros, ya sean calóricos o artificiales (Salcedo, 2009).

Se emplea en productos de confitería por su alto poder edulcorante sin formación de cristales y por su poder humectante. La materia prima para la obtención de fructosa es la inulina (hidrolisis acida) o las mezclas de glucosa-fructosa (azúcar invertido o jarabes de glucosa isomerizada); en este último caso, se separa de la glucosa por cromatografía (Hernández, 2010).

3.3.3 Glucosa

La D-glucosa o dextrosa se encuentra de forma natural en la miel (31%); las frutas, como uvas y cerezas (7%), manzanas y melocotones (1%); las verduras y hortalizas como cebolla, tomate, zanahoria, pepino y judías verdes; en las patatas y el maíz dulce. En forma polimérica se encuentra en vegetales (almidón y celulosa) y en animales (glucógeno) (Hernández, 2010).

Las soluciones de glucosa del 2 al 50% son 0,5 a 0,9 veces menos dulces que la sacarosa. La tecnología alimentaria emplea la glucosa en la elaboración de bebidas, productos de panadería y confitería principalmente. La materia prima para la obtención de glucosa son los almidones procedentes de maíz, trigo, del arroz y de la patata, mediante hidrólisis enzimática y posterior evaporación, cristalización y desecación. La glucosa se presenta en forma anhidra o monohidratada y, según la reglamentación de la Unión Europea, debe tener una pureza mínima de 99,5% referida a materia seca, con un contenido de humedad <2% para la glucosa anhidra y <19% para la glucosa monohidratada.

La glucosa se encuentra libre en la sangre de todos los mamíferos, se oxida en las células como fuente energética y se almacena en forma de glucógeno en el hígado y el musculo esquelético (Hernández, 2010).

3.3.4 Glicerina

La glicerina es un subproducto de la fabricación del propileno y de la industria del jabón además de un subproducto de la fabricación de biodiesel. Puede ser obtenida de fuentes naturales por fermentación, o por ejemplo melaza de remolacha azucarera en la presencia de grandes cantidades de sulfito de sodio. En la literatura se utiliza en forma indistinta la palabra glicerina para designar al glicerol (1,3 propanotriol), a la glicerina refinada (porcentaje de glicerol superior al 80%) y a la mezcla de glicerol, agua, jabón y sales (glicerina cruda) producto de la elaboración del biodiesel, lo que puede aportar alguna confusión en el tratamiento de este tema (Woloj, 2010).

Comercialmente se conocen varios grados de glicerol. La glicerina grado "USP" (U.S. Phamacopeia) tiene un contenido de glicerol superior al 95% peso. La glicerina grado "CP" < glicerina "químicamente pura" generalmente tiene la misma calidad que la glicerina grado USP, pero este término es considerado genérico en los Estados Unidos debido a la falta d certificación por parte de organismos oficiales.

Los sinónimos de la glicerina son: Glicerol, Alcohol glicérico y Propano-1,2,3-triol. Cuenta con una fórmula molecular $C_3H_8O_3$ y su peso molecular es de 92,09 gramos/mol.

Sus datos fisicoquímicos son: Líquido siruposo, untuoso al tacto, incoloro o casi incoloro, límpido muy higroscópico. Miscible con agua y etanol al 96%, poco soluble en acetona, prácticamente insoluble en aceites grasos y en aceites esenciales. Densidad: 1,256 - 1,264 g/ml; Índice de refracción: 1,4700 - 1,4750; Es higroscópica (Acofarma, 2009).

3.3.4.1 Propiedades y usos

La glicerina es un agente deshidratante osmótico con propiedades higroscópicas y lubricantes. Tiene también acción antiflogística local y tópica. Es emoliente, protegiendo y ablandando la piel. Por vía oral es demulcente y laxante débil, también edulcorante. Es un buen disolvente de sustancias orgánicas y minerales (Acofarma, 2009).

Algunos de sus usos principales son:

- En todo tipo de formas tópicas para casos de piel seca, asperezas cutáneas, ictiosis, eczemas no rezumantes, etc.
- Para el tratamiento del estreñimiento y de la dependencia a laxantes. En supositorios para promover la evacuación fecal, actúa en unos 15-30 min.
- Para reducir la presión intraocular y el volumen vítreo antes de la cirugía oftálmica y como coadyuvante en el tratamiento del glaucoma agudo.
- Se aplica tópicamente para reducir el edema corneal, pero dado que el efecto es transitorio solamente para facilitar el examen ocular previa aplicación de otro colirio anestésico.
- También se usa vía oral o I.V. para reducir la presión intracraneal y/o el volumen de fluido cerebroespinal en casos de infarto cerebral o ictus.
- Se ha usado a partes iguales con alcohol 96% para la prevención de grietas en el pecho de madres lactantes.

- En gotas óticas utilizadas para extraer la cera de los oídos, que a menudo contienen glicerina como agente lubricante y reblandeciente.
- En cosmética se usa ampliamente por sus propiedades emolientes y humectantes.
- Para evitar la evaporación de la fase acuosa en las emulsiones y sistemas gelificados, mejorando además sus propiedades plásticas.
- Como agente humectante en la elaboración de pastas y suspensiones.
- Como disolvente y vehículo de muchos principios activos para su posterior incorporación a las formas farmacéuticas tópicas.
- Como edulcorante, conservador en algunas formulaciones líquidas, y como plastificante en el recubrimiento de comprimidos. Se incluye a menudo en preparaciones tópicas como gotas oculares, cremas y lociones debido a su efecto lubricante (Acofarma, 2009).

3.3.4.2 Efectos secundarios:

Sus reacciones adversas se deben principalmente a su acción deshidratante. Por vía oral puede causar dolor de cabeza, náuseas, vómitos y menos frecuentemente diarrea, sed, mareos y confusión mental. Se ha observado algún caso de arritmias cardíacas. Por vía intravenosa puede producir hemolisis, hemoglobinuria e insuficiencia renal aguda. Por vía tópica o rectal puede causar prurito e irritación (Acofarma, 2009).

3.3.4.3 Precauciones:

Por vía tópica debe usarse disuelta en agua porque concentrada es irritante. Debe usarse con precaución en pacientes con hipervolemia, fallo cardíaco o hepático, y enfermedad renal, así como en individuos deshidratados y diabéticos (Acofarma, 2009).

3.3.4.4 Incompatibilidades

Agentes oxidantes fuertes tales como el trióxido de cromo, el clorato y el permanganato potásicos, y el ácido nítrico (forma mezclas explosivas). En presencia de luz y óxido de zinc o subnitrato de bismuto se colorea de negro (Acofarma, 2009).

3.4 Jarabe Simple

Los jarabes son preparaciones líquidas que contienen una gran proporción de azúcar en su composición. Tiene la ventaja de su sabor agradable que disimula ciertos sabores desagradables procedentes de las sustancias medicamentosas, además de su gran estabilidad, tanto física como de posibles alteraciones biológicas (Jover, et.al, 2006).

3.4.1 Características de un jarabe:

La farmacopea española dice que salvo raras excepciones los jarabes deben ser diáfanos o casi diáfanos, no deben contener sedimentos ni amorfos ni cristalinos, deben tener una densidad de 1.32 o si no la alcanzan deben ser muy próximas a esta cifra. La cantidad de sacarosa que contienen será aproximadamente del 64% en peso (Jover, et.al, 2006).

La farmacopea española indica que los jarabes se conservarán en frascos pequeños, y previamente esterilizados, llenos y bien tapados. Los frascos serán de vidrios coloreados, aunque existan excepciones. Se conservarán en sitios frescos y protegido de la luz (Jover, et.al, 2006).

3.4.1.1 Tipos de jarabe:

a. Jarabe simple:

Solución en frío y filtración por papel. Se preparan a partir de agua destilada y azúcar. En una solución sobresaturada de sacarosa.

b. Jarabes medicamentosos:

Solución en caliente, clarificado con albúmina y filtrado. Son incorporados al jarabe simple, tinturas, extractos e incluso zumos (Jover, et.al, 2006).

3.4.1.2 Composición Jarabe simple

Componentes	Cantidad
Sacarosa	640g
Agua Destilada	360ml

Fuente: Jover, et.al, 2006

3.4.1.3 Precauciones en su elaboración:

Se debe disolver en frío y filtrarse, para obtener un líquido viscoso, incoloro e inodoro. Si se añaden 10cc de alcohol al 95 a 10cc de jarabe simple no debe enturbiarse el mismo.

La filtración se debe de realizar utilizando papel de filtro especial. Las primeras porciones se devolverán al líquido, para que el filtrado sea lo más homogéneo posible (Jover, et.al, 2006).

Ejemplo de modo de elaboración de un jarabe simple:

- Pesar en un vaso de precipitado de 1 litro, previamente tarado, la sacarosa.
- Medir con una probeta el agua destilada y verterla sobre la sacarosa.
- Agitar primero con una varilla de vidrio y, una vez mezclado un poco, colocar el vaso sobre la placa calefactora y situar todo ello en un agitador hasta completa disolución.
- Filtrar al mismo tiempo en dos frascos topacio con objeto de que no se enfríe demasiado y la filtración sea lo más rápida posible.

- Tapar los frascos y conservar en frigorífico. Caducidad y conservación – Estabilidad: 30 días en nevera (2-8 °C). – Conservación: en nevera (Llopis, 1985 & Atienza, 2002).

3.4.1.4 Observaciones

No se debe sobrepasar la temperatura que nuestras manos no sean capaces de aguantar al tocar el vaso, pues de lo contrario aumenta la concentración de azúcar invertido. Con un calor suave es suficiente para que la filtración sea bastante rápida y se agilice el proceso de preparación (Llopis, 1985 & Atienza, 2002).

3.4.2 Pruebas aplicados a los jarabes:

3.4.2.1 Evaluación de la viscosidad:

- Viscosímetro de Brookfield:

Su funcionamiento se basa en la rotación de una aguja o cilindro dentro del material de prueba. El dial del instrumento esta graduado de manera tal que la lectura, multiplicada por un factor, da directamente la viscosidad en centipoises. El aparato está accionado por un motor sincrónico de baja velocidad y alto torque. El mecanismo del tren de engranaje permite diferentes aumentos de cizalla con lo que podemos medir un amplio intervalo de viscosidad con el mismo instrumento. Materiales no newtonianos (Tixotrópicos, dilatantes, plástico) pueden ser medidos a diferentes valores de cizalla, fácil y rápidamente, cambiando la aguja, o la velocidad, o ambos. Existen en el comercio diferentes tipos de viscosímetros Brookfield equipados con diferentes agujas y que trabajan a varias velocidades. Los modelos LV vienen con 4 agujas y de 4 a 8 velocidades. Las agujas se atornillan en el pivote del cabezal, operación que debe hacerse con mucho cuidado para no dañar el mecanismo. El dial esta graduado en divisiones simétricas de 0 a 100 y posee un apuntador. La lectura en el dial, multiplicada por el factor

indicado en las tablas provistas con el aparato, da la lectura directamente en centipoise (cps) (Pérez, 2014).

• **Densidad relativa:**

El método del picnómetro es uno de los más sencillos y prácticos para determinar densidades. El picnómetro es un pequeño frasco de vidrio, cerrado por un tubo vertical de diámetro pequeño, en la que hay marcada una señal de enrase, para disponer de un volumen constante. El Picnómetro es un recipiente de vidrio provisto de un tapón con un tubo capilar marcado con un enrase en su parte superior (Valderrama, 2010).

• **pH**

La técnica conocida con el nombre de potenciometría directa, consiste en la medida de la actividad (o concentración) de una especie química, midiendo directamente el potencial con el que está directamente relacionada, mediante una conocida función logarítmica conocida como ecuación de Nernst.

$$E = E_0 + 2,3 (RT/nF) \log a_i$$

Siendo

E = Potencial medido (mV)
R = constante de los gases
n = valencia del ión
a_i = actividad iónica

E₀ = Potencial de referencia (mV)
T = temperatura absoluta (K)
F = constante de Faraday

En esta ecuación E es el potencial desarrollado por el sistema, E₀ el potencial de referencia, "R" la constante de los gases, "T" la temperatura absoluta, "n" el número de electrones que se transfieren y "F" la constante de Faraday. a_i representa la actividad del ión de interés. La actividad iónica está relacionada con la concentración (c_i) por el factor de actividad (f_i). a_i = f_i c_i A temperatura constante, la ecuación de Nernst puede escribirse: E=E₀+S a_i donde S es la pendiente del electrodo.

De la ecuación de Nernst se deduce que, efectuando mediciones de potencial respecto a un electrodo de referencia, puede conocerse la actividad y, por tanto, la concentración del ión en cuestión. La aplicación más conocida de las potenciometrías directas es la utilización de lo que se conoce con el nombre de Electroodos Selectivos de Iones (ISE). Para obtener mediciones analíticas válidas en potenciometría, uno de los electrodos deberá ser de potencial constante y que no sufra cambios entre uno y otro experimento. El electrodo que cumple esta condición se conoce como electrodo de referencia. Debido a la estabilidad del electrodo de referencia, cualquier cambio en el potencial del sistema se deberá a la contribución del otro electrodo, llamado electrodo indicador o de trabajo. El electrodo de referencia puede ser un electrodo individual o estar incorporado al electrodo indicador (electrodo combinado) (Auxilab, 2009).

- **Control Microbiológico**

Según USP XXXI

3.5. Determinación de azúcares reductores y totales:

3.5.1 Determinación cualitativa de Monosacáridos (Azúcares Reductores):

3.5.1.1 Reacción de Fehling:

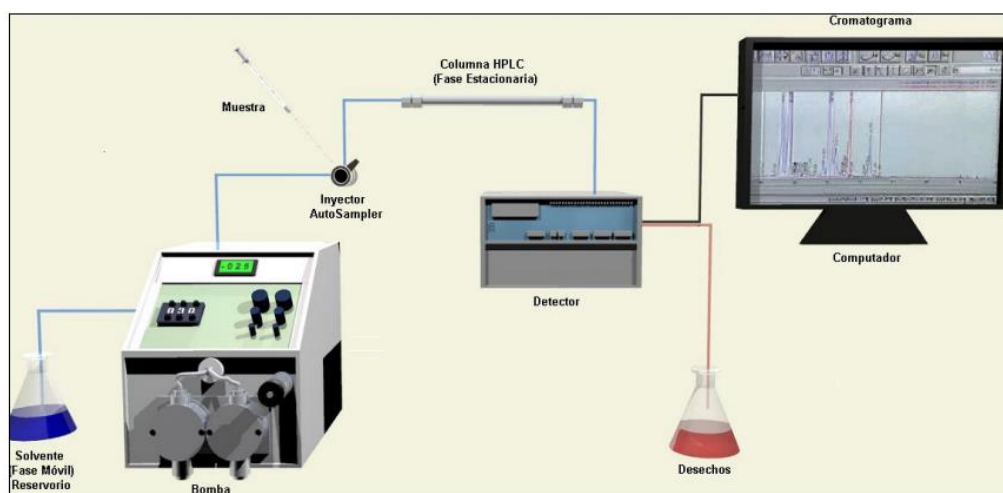
Este ensayo pone de manifiesto la presencia de azúcares reductores (aldosas: glucosa, ribosa, eritrosa, etc.). Se trata de una reacción redox en la que el grupo aldehído (reductor) de los azúcares es oxidado a grupo ácido por el Cu^{2+} que se reduce a Cu^+ . Tanto los monosacáridos como los disacáridos reductores reaccionan con el Cu^{2+} dando un precipitado rojo de óxido cuproso. La reacción tiene lugar en medio básico por lo que es necesario introducir en la reacción tartrato sódico-potásico para evitar la precipitación del hidróxido cúprico. La prueba de Fehling no es

específica; otras sustancias que dan reacción positiva son los fenoles, aminofenoles, benzoína, ácido úrico, catecol, ácido fórmico, hidrazobenceno, fenilhidrazina, pirogalol y resorcinol (Acasti, 2014).

3.5.2 Determinación cuantitativa de fructosa, glicerina y sacarosa:

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) se define como la técnica analítica de separación ampliamente utilizada dada su sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su idoneidad para la separación de especies y, sobre todo, su aplicabilidad a sustancias que son de primordial interés en la industria, así como en muchos campos de la ciencia y la sociedad en general. Algunos ejemplos de estos materiales incluyen: aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, hidrocarburos, carbohidratos, fármacos, terpenoides, plaguicidas, antibióticos, esteroides, especies órgano-metálicas y una variedad de sustancias inorgánicas (SKOOG, 2001).

Figura No.7: Esquema General de un Sistema HPLC



Para la determinación de carbohidratos el sistema de cromatografía líquida de alta resolución debe ser acoplado a un detector de índice de refracción, este mide la diferencia de índice de refracción entre el solvente puro y el solvente que contiene la muestra. Es un detector universal, ya que es

altamente improbable que el índice de refracción del soluto sea similar al del solvente. Como inconveniente tiene la desventaja de ser muy poco sensible, esto limita su campo de aplicación y es muy afectado por cambios de temperatura. No se puede utilizar con programación de solventes porque el cambio de la composición de la fase móvil se acompaña del cambio de su índice de refracción, como consecuencia no se estabiliza la línea base. Existen tres tipos diferentes de detectores de Índice de Refracción: Fresnel, Deflexión e Interferométrico (QUATTROCCHI et al, 1992).

3.6 Productos Terminados:

3.6.1 Jarabe de Acetaminofén:

Para el jarabe de acetaminofén que será realizado, se garantizará su calidad, al evaluar:

- Características organolépticas: Aspecto, Color y Olor.
- pH por potenciómetro.
- Uniformidad
- Densidad con picnómetro.
- Análisis microbiológico: Aerobios totales, Mohos y levaduras y presencia de *E.Coli* (RTCA 11.03.42:07, 2007).

3.6.2 Crema Humectante:

Para la crema humectante que será realizada, se garantizara su calidad, al evaluar:

- Controles fisicoquímicos
- pH por potenciómetro.
- Viscosidad por Brookfield
- Color
- Aspecto
- Microbiológicos: Aerobios.
- Peso específico (RTCA 71.01.35.:06, 2006).

7.3.2 3.6.3 Jalea de Frutas:

Para la jalea de frutas que será realizada, se garantizará su calidad, al evaluar:

- Sólidos solubles por lectura (°Brix) a 20°C.
- pH por potenciómetro.
- Conservante
- Control Microbiológico: bacterias patógenas, moho y levaduras y bacterias Aerobias (RTCA 67.04.54:10, 2010).

4. JUSTIFICACIÓN

La glicerina es un compuesto orgánico utilizado en varias industrias; como la cosmética, alimenticia, medicamentos, etc. Actualmente la glicerina se obtiene a partir de la saponificación de grasas con álcalis (del cual se obtiene el 70% de la glicerina), de la fermentación del azúcar y de la producción de biocombustibles. Las últimas dos técnicas no son tan utilizadas como la primera.

La glicerina obtenida como subproducto de la síntesis de biodiesel utilizando como materia prima aceites usados es considerada un desecho industrial, por el bajo nivel de pureza y su alto grado de contaminación de naturaleza indeterminada, por lo que esta opción de obtención de glicerina no es tan viable debido a que la glicerina debe pasar por un proceso de purificación. En cuanto a la glicerina obtenida por medio de la saponificación; se debe de extraer la misma de la lejía final obtenida, evaporando el agua, removiendo cristales de sal, realizar un proceso de destilación y por ultimo de blanqueo obteniendo una glicerina de alta pureza. En el caso de la técnica de fermentación, la mayoría de glicerina no se extrae de la misma debida a que es de dificultad separar la misma de los demás compuestos resultantes de la fermentación, debido a su parecido estructural con los mismos como lo es el alcohol.

Por lo que la industria en general, cuenta únicamente con un método comprobado de obtención de glicerina de alta pureza; la saponificación.

Esta investigación determino si la enzima diastasa e invertasa presentes en la abeja muerta, producen a partir de una fuente de sacarosa, glicerina y jarabe de fructosa. Permitiendo de esta manera tener la ventaja de que no se deba de realizar la separación de la glicerina de los demás compuestos, ya que se obtendría una mezcla con características edulcorantes por la combinación con la fructosa y espesantes por la glicerina. De esta manera se estaría brindando una opción viable para que la industria en general tenga una fuente de glicerina combinada con fructosa.

Se realizó este proceso a partir de un jarabe simple de sacarosa y agua, al cual se le agregó diferentes proporciones de abejas. De esta manera se logró que las enzimas entraran en contacto directo con la sacarosa. Así la diastasa e invertasa, transformaron la sacarosa en glicerina y fructosa. A partir de esta mezcla se realizaron tres productos; un jarabe de acetaminofén, una crema humectante y una jalea de fruta.

Para determinar la calidad de esta mezcla, se efectuaron controles de calidad fisicoquímicos y microbiológicos a la materia prima y productos terminados; a estos últimos también se les realizó una prueba de estabilidad acelerada. Para medir la aceptación de los mismos por la población en general, se realizaron pruebas de satisfacción.

5. OBJETIVOS

5.1 General:

Determinar si la enzima diastasa e invertasa presentes en la abeja muerta, producen glicerina y jarabe de fructosa útil para la industria a partir de una solución de sacarosa.

5.2 Específicos:

- Identificar la presencia de glicerina y fructosa en la mezcla enzimática por medio de pruebas cualitativas (Fehling).
- Determinar la concentración de glicerina y fructosa en la mezcla enzimática a partir de pruebas cuantitativas. Comprobar la mezcla idónea de abeja, sacarosa a determinada temperatura y tiempo para poder producir glicerina y jarabe de fructosa.
- Identificar y cuantificar la presencia de glicerina y fructosa en la mezcla enzimática por medio de HPLC.
- Examinar variables fisicoquímicas para determinar las condiciones en las cuales se acelera el proceso enzimático.
- Evaluar la funcionalidad de mezcla de glicerina y jarabe de fructosa por medio de la elaboración de lotes piloto en un medicamento, cosmético y alimento.
- Comprobar la calidad de los productos terminados en base las especificaciones del Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) a través de pruebas de control de calidad.
- Identificar mediante pruebas de satisfacción, el grado de aceptación de los productos realizados.

6. HIPÓTESIS

La glicerina y el jarabe de fructosa obtenidos a partir del proceso enzimático de la abeja muerta y una fuente de sacarosa, pueden utilizarse en la industria.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Universo

Mezcla de Jarabe de Fructosa – Glicerina obtenida a partir de la reacción enzimática de la diastasa e invertasa encontradas en la abeja muerta con sacarosa.

7.2 Muestra

Productos elaborados en el Laboratorio de Farmacia Industrial a partir de la mezcla de jarabe de Fructosa – Glicerina obtenida de la reacción enzimática de la diastasa e invertasa de las abejas muertas con sacarosa.

7.3 Recursos Humanos e institucionales

7.3.1 Recursos Humanos

- Bachiller Karen Elizabeth Rodríguez Cisneros
- Bachiller Estephania Liska de León
- Asesor: Licenciado Julio Gerardo Chinchilla Vettorazzi
- Revisor: Licenciada Lucrecia Martínez de Haase

7.3.2 Recursos Institucionales

- Biblioteca Central de la Universidad de San Carlos de Guatemala
- Biblioteca de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Departamento de Farmacia Industrial, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Laboratorio San Cristóbal
- Laboratorio LASER
- SERQUIM, S.A.
- Facultad de Farmacia de la Universidad del Valle de Guatemala

7.4 Materiales

7.4.1 Reactivos

- Reactivo de Fehling
- Acetonitrilo grado HPLC
- Etanol grado HPLC
- Metanol grado HPLC
- Agua grado HPLC
- Azul de metileno
- Agua destilada
- Etanol 80%
- Acetato de plomo
- Oxalato en polvo
- Ácido clorhídrico
- Hidróxido de sodio
- Sulfato de cobre
- Citrato de sodio
- Carbonato de sodio

7.4.2 Cristalería

- Balón aforado de 100ml, 250ml
- Perlas de vidrio
- Earlenmayer
- Bureta
- Probeta
- Varillas de agitación
- Micropipetas
- Beaker
- Reloj de vidrio
- Matraz aforado

7.4.3 Equipo

- Viscosímetro de Brookfield
- Cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC)
- Picnómetro
- Potenciómetro
- Balanza Analítica
- Balanza Semianalitica
- Estufa
- Baño maría
- Termómetro
- Molino

7.4.4 Materia Prima

- Abejas
- Jarabe Simple
- Acetaminofén
- Alcohol etílico al 96%
- Agua purificada
- Cera de Abejas
- Borato Sódico
- Vaselina
- Benzoato de sodio
- Azúcar
- Limón
- Naranja

7.5 Métodos

7.5.1 Método de Fehling:

A.- Estandarización de la solución de Fehling:

Colocar la solución diluida de glucosa en una bureta. Colocar en un balón aforado de 250 ml 5 ml de solución de Fehling A y 5 ml de solución de Fehling B. Añadir 2 o 3 gotas de solución de azul de metileno. Diluir con aproximadamente 20 ml de agua destilada y agregar perlas de vidrio. Llevar a ebullición la solución de Fehling y agregar lentamente la solución de glucosa sin dejar de calentar, hasta que desaparezca la coloración azul. En el momento en que desaparece el color del indicador, en los bordes del fondo del balón aforado se puede observar cierto tono rojizo. Nota: durante todo el tiempo en que se añade la solución de glucosa, la solución de Fehling debe mantenerse en ebullición.

B.- Preparación de la solución clarificada de azúcares:

Pesar una cantidad de muestra tal que, en la solución final clarificada, la concentración de azúcares reductores sea de 2 a 5 mg/ml (para gastar entre 10 y 25 ml de dicha solución por cada 10 ml de solución de Fehling). Homogeneizar la muestra con 50 ml de etanol al 80% (v/v) y traspasar cuantitativamente a un matraz aforado de 250 ml; aforar con etanol (80%), mezclar bien y filtrar. Tomar una alícuota de 25 ml de la solución filtrada y colocarla en un matraz aforado de 250 ml. Diluir con 50 ml de agua destilada y añadir unos pocos mililitros de solución de acetato de plomo (30%), hasta lograr la precipitación completa (en el caso de jugos, pulpas y mermeladas de frutas es suficiente añadir 1 o 2 gotas de la solución de acetato de plomo al 30%). Mezclar bien y filtrar. Agregar al filtrado oxalato en polvo en pequeñas porciones (una cantidad muy pequeña tomada con la punta de una espátula para evitar la profusión de oxalato) hasta eliminar el exceso de acetato de plomo. Mezclar y filtrar descartando los primeros mililitros. El filtrado debe quedar perfectamente transparente.

C.- Determinación de azúcares reductores (originalmente presentes):

Tomar una alícuota de 25ml, colocarla en un matraz aforado de 100 ml, aforar con agua, mezclar bien y colocar la solución en una bureta. Colocar en un balón aforado de 250ml 5 ml de solución de Fehling A y 5 ml de solución de Fehling B. Añadir 2 o 3 gotas de solución de azul de metileno. Diluir con aproximadamente 20 ml de agua destilada y agregar perlas de vidrio. Llevar a ebullición la solución de Fehling y proceder igual a como se hizo durante la estandarización de la solución de Fehling.

D.- Determinación de azúcares totales

En un vaso de precipitados de 100 ml, colocar una alícuota de 25 ml de solución clarificada. Agregar 5 ml de solución de HCl (1:1) y calentar a 70 °C durante 5 minutos. Enfriar a temperatura ambiente y con ayuda de un potenciómetro llevar a pH 8,2 utilizando una solución 6N de NaOH (en caso de no disponer de un potenciómetro, añadir 2 o 3 gotas de fenolftaleína y titular lentamente con la solución de hidróxido de sodio hasta el cambio de viraje del indicador, luego añadir lentamente, gota a gota HCl (1:1) hasta la desaparición del color rosado). Una vez alcanzado el pH indicado, pasar la solución cuantitativamente a un matraz aforado de 100 ml, aforar con agua, mezclar bien y colocar la solución en una bureta. Colocar en un balón aforado de 250 ml 5 ml de solución de Fehling A y 5 ml de solución de Fehling B. Añadir 2 o 3 gotas de solución de azul de metileno. Diluir con aproximadamente 20 ml de agua destilada y agregar perlas de vidrio. Llevar a ebullición la solución de Fehling y proceder igual a como se hizo durante la estandarización de la solución de Fehling. Nota: los azúcares no reductores son calculados restando al contenido de azúcares totales, el contenido de azúcares reductores. Para convertir este valor en contenido de sacarosa, se debe considerar la suma de los pesos moleculares de la glucosa y la fructosa (360 g/mol) y el de la sacarosa (342 g/mol) (Ciens, 2013).

7.5.2 Control de calidad de Materias Primas

7.5.2.1 Acetaminofén

- a. Identificación: A: Absorción en el Infrarrojo <197K> B: Absorción en el Ultravioleta <197U>—Solución: 5 mg por mL. Medio: ácido clorhídrico 0,1N en metanol (1 en 100). C: Responde a la Prueba de Identificación por Cromatografía en Capa Delgada <201>, empleando una solución de prueba en metanol que contenga aproximadamente 1 mg por mL y una fase móvil constituida por una mezcla de cloruro de metileno y metanol (4:1).
- b. Intervalo de fusión: entre 1688 y 1728.
- c. Agua: no más de 0.5%.
- d. Residuo de incineración: no más de 0.1%.
- e. Cloruros <221>: Agitar 1.0 g con 25 mL de agua, filtrar y agregar 1mL de ácido nítrico 2N y 1 mL de nitrato de plata SR: el filtrado no presenta más cloruro que el correspondiente a 0.20 mL de ácido clorhídrico 0.020N (0.014%).
- f. Sulfatos <221>: Agitar 1,0 g con 25 mL de agua, filtrar y agregar 2.0mL de ácido acético 1N y después agregar 2.0 mL de cloruro de bario SR: la mezcla no presenta más sulfato que el correspondiente a 0.20 mL de ácido sulfúrico 0.020N (0.02%).
- g. Sulfuros: Colocar aproximadamente 2.5 g en un vaso de precipitados de 50 mL. Agregar 5 mL de alcohol y 1 mL de ácido clorhídrico 3 N. Humedecer una pieza de papel de prueba de acetato de plomo con agua y fijar a la cara inferior de un vidrio de reloj. Cubrir el vaso de precipitados con el vidrio de reloj de forma que parte del papel de acetato de plomo cuelgue cerca del pico de vertido del vaso de precipitados. Calentar el contenido del vaso de precipitados en una placa de calentamiento hasta ebullición: no se observa coloración ni manchas en el papel de prueba.
- h. Metales pesados, Método II <231>: 0.001%.

- i.** p-Aminofenol libre: Transferir 5.0 g a un matraz volumétrico de 100 mL y disolver en aproximadamente 75 mL de una mezcla de volúmenes iguales de metanol y agua. Agregar 5.0 mL de solución de nitroferricianuro alcalino (preparada por disolución de 1.0 g de nitroferricianuro de sodio y 1.0 g de carbonato de sodio anhidro en 100 mL de agua), diluir a volumen con una mezcla de volúmenes iguales de metanol y agua, mezclar y dejar en reposo durante 30 minutos. Determinar concomitantemente las absorbancias de esta solución y de una solución recién preparada de p-aminofenol, preparada de forma similar a una concentración de 2.5 mg por mL, usando las mismas cantidades de los mismos reactivos, en celdas de 1 cm, al máximo de aproximadamente 710 nm, con un espectrofotómetro adecuado, utilizando como blanco 5.0 mL de solución de nitroferricianuro alcalino diluido a 100 mL con una mezcla de volúmenes iguales de metanol y agua: la absorbancia de la solución de prueba no excede de la de la solución estándar, correspondiente a no más de 0.005% de p-aminofenol.
- j.** Límite de p-cloroacetanilida—Cualquier mancha obtenida a partir de la solución en análisis, a un valor RF correspondiente a la mancha principal de la solución estándar, no supera el tamaño ni la intensidad de la mancha principal obtenida a partir de la solución estándar, correspondiente a no más de 0,001% de p-cloroacetanilida.
- k.** Sustancias fácilmente carbonizables: Disolver 0.50 g en 5 mL de ácido sulfúrico SR: la solución no tiene un color más intenso que el líquido de Comparación A.
- l.** Impurezas orgánicas volátiles: Método V <467>: cumple con los requisitos. Disolvente—Usar dimetil sulfóxido.
- m.** Valoración: Disolver aproximadamente 120 mg de Acetaminofeno, pesados con exactitud, en 10 mL de metanol en un matraz volumétrico de 500 mL, diluir a volumen con agua y mezclar. Transferir 5,0 mL de esta solución a un matraz volumétrico de 100mL, diluir a volumen con agua y mezclar. Determinar concomitantemente las absorbancias de esta

solución y de una solución estándar de ER Acetaminofeno USP, en el mismo medio, a una concentración de aproximadamente 12 mg por mL en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de absorbancia máxima, aproximadamente a 244 nm, con un espectrofotómetro adecuado usando agua como blanco. Calcular la cantidad, en mg, de $C_8H_9NO_2$ en el Acetaminofeno tomado, por la fórmula:

$$10C (AU / AS)$$

en donde C es la concentración, en mg por mL, de ER Acetaminofeno USP en la solución estándar; y AU y AS son las absorbancias de la solución de Acetaminofeno y de la solución estándar, respectivamente.

7.5.2.2 Azúcar (Dextrosa)

- a.** Identificación, Rotación específica, Cloruros, Calcio, Sulfatos y Metales pesados: Transferir aproximadamente 20 g, pesados con exactitud, a un matraz volumétrico de 100 mL, agregar 80 mL de agua, agitar para disolver la sacarosa, agregar agua a volumen y mezclar. Separar la sacarosa solubilizada del almidón insoluble por filtración hasta que el filtrado se vuelva totalmente transparente. Emplear la porción insoluble en la prueba de Identificación y utilizar el filtrado transparente recién preparado en las siguientes pruebas.
- b.** Identificación: Una suspensión espesa en agua de la porción insoluble se torna de color violeta rojizo a azul intenso por efecto del yodo SR.
- c.** Rotación específica: no menos de +62.68, determinada sobre una porción del filtrado que corresponda a no menos del 95.0% de $C_{12}H_{22}O_{11}$, calculada con respecto a la sustancia seca.
- d.** Cloruros: Una porción de 10 mL del filtrado no presenta más cloruro que el correspondiente a 0.40 mL de ácido clorhídrico 0.020N (0.014%).

- e. Calcio: A 5.0 mL del filtrado, agregar 5.0 mL de agua y 1.0 mL de oxalato de amonio SR: la solución permanece clara por lo menos durante 1 minuto.
- f. Sulfatos: Una porción de 25 mL del filtrado no presenta más sulfato que el correspondiente a 0.30 mL de ácido sulfúrico 0.020N (0.006%).
- g. Metales pesados: Agregar a 20 mL del filtrado 4 mL de agua y 1.0mL de ácido clorhídrico 0.1 N: el límite es 5 ppm.
- h. Límites microbianos: Cumple con los requisitos de las pruebas de ausencia de *Salmonella spp.* y de *Escherichia coli*.
- i. Pérdida por secado: Secar a 105°C durante 4 horas: no pierde más de 1.0% de su peso.
- j. Residuo de incineración: no más de 0.08%.
- k. Impurezas orgánicas volátiles: cumple con los requisitos.

7.5.2.3 Benzoato de sodio

- a. Identificación: Responde a las pruebas para Sodio <191> y para Benzoato <191>.
- b. Alcalinidad: Disolver 2.0 g en 20 mL de agua caliente y agregar 2 gotas de fenolftaleína SR: si se produjera un color rosado, éste desaparece agregando 0.20 mL de ácido sulfúrico 0.10 N.
- c. Agua, Método I <921>: no más de 1.5%.
- d. Metales pesados: Disolver 4.0 g en 40 mL de agua, agregar, gota a gota y mezclando vigorosamente, 10 mL de ácido clorhídrico 3N y filtrar. Usar 25 mL del filtrado: el límite es 0.001%.
- e. Valoración: Transferir a un vaso de precipitados de 250 mL aproximadamente 600 mg de Benzoato de Sodio, pesados con exactitud. Agregar 100 mL de ácido acético glacial, mezclar hasta que la muestra de valoración esté completamente disuelta, agregar 2 gotas de cristal violeta SR y valorar con ácido perclórico 0.1N SV hasta un punto final verde. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones

necesarias. Cada mL de ácido perclórico 0.1N equivale a 14.41 mg de $C_7H_5NaO_2$.

7.5.2.4 Borato de sodio

- a. Identificación: Una solución (1 en 20) responde a las pruebas para Sodio <191> y para Borato <191>.
- b. Carbonatos y bicarbonatos: A un tubo de ensayo que contenga 5 mL de una solución (1 en 20), agregar 1.0 mL de ácido clorhídrico 3N: no se observa efervescencia.
- c. Metales pesados: Disolver 1g en 16 mL de agua y 6 mL de ácido clorhídrico 1N, y diluir con agua hasta 25 mL: el límite es 0.002%.
- d. Impurezas orgánicas volátiles, Método I <467>: cumple con los requisitos.
- e. Valoración: Disolver aproximadamente 3 g de Borato de Sodio, pesados con exactitud, en 50 mL de agua, agregar rojo de metilo SR y valorar con ácido clorhídrico 0.5N SV. [NOTA—Puede ser necesario calentar en un baño de vapor al comienzo para lograr la disolución]. Cada mL de ácido clorhídrico 0.5N equivale a 95.34 mg de $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$.

7.5.2.5 Cera de abeja

- a. Intervalo de fusión: 62°C y 65°C.
- b. Prueba de saponificación y turbidez: Colocar 3.00 g en un matraz de ebullición de fondo redondo de 100mL equipado con una junta de vidrio esmerilado. Agregar 30mL de una solución que se prepara disolviendo 40 g de hidróxido de potasio en aproximadamente 900mL de alcohol exento de aldehídos mantenidos a una temperatura que no exceda de 15°C, y una vez terminada la solución, calentar hasta temperatura ambiente y agregar suficiente alcohol exento de aldehídos hasta completar 1000mL. Someter la mezcla a reflujo suave durante 2 horas. Al final de este periodo, abrir el matraz, insertar un termómetro en la solución y colocar el matraz en un recipiente con agua a

una temperatura de 80°C. Mientras el baño y la solución se enfrían, girar el matraz dentro del recipiente: la solución no presenta turbidez ni formación de glóbulos antes de alcanzar la temperatura de 65°C.

c. Grasas o ácidos grasos, cera de Japón, colofonia y jabón: Calentar a ebullición 1.0g durante 30 minutos con 35 mL de hidróxido de sodio 3.5N en un vaso de precipitados de 100 mL, manteniendo el volumen mediante la adición ocasional de agua, y dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente durante aproximadamente 2 horas: La cera se separa, dejando el líquido transparente, turbio o translucido, pero no opaco. Filtrar la mezcla fresca y acidificar el filtrado transparente con ácido clorhídrico: el líquido permanece transparente o presenta, como máximo, leve turbidez o precipitado.

d. Índice de acidez: Colocar en un matraz de 200 mL aproximadamente 3g, pesados con exactitud, con 25 mL de alcohol deshidratado neutralizado y entibiar hasta que se haya fundido. Agitar la mezcla y agregar 1.0 mL de fenolftaleína SR. Valorar el líquido tibio con hidróxido de potasio alcohólico 0.5N SV hasta producir un color rosado débil permanente: el índice de acidez así obtenido es entre 17 y 24.

e. Índice de esterificación: Agregar a la solución obtenida según se indica en la determinación del Índice de acidez 25.0 mL de hidróxido de potasio alcohólico 0.5N SV y 50 mL de alcohol libre de aldehído. Someter la mezcla a reflujo durante 4 horas y valorar el exceso de álcali con ácido clorhídrico 0.5N SV. Efectuar una determinación con un blanco. El índice de esterificación así obtenido esta entre 72 y 79.

7.5.2.6 Propil-parabeno

a. Identificación: Intervalo de fusión <741>: entre 96°C y 99°C.

b. Color de la solución: Disolver 1g en alcohol, diluir con alcohol hasta 10 mL y mezclar (solución de propilparabeno). La solución es transparente y no tiene un color más intenso que el del alcohol o que el de una solución preparada inmediatamente antes de usar mezclando 2,4 mL de cloruro férrico SC, 1.0 mL de cloruro cobaltoso SC y 0,4 mL de sulfato cúprico SC con ácido clorhídrico 0.3N

para obtener 10 mL, y diluyendo 5.0 mL de esta solución con ácido clorhídrico 0.3N para obtener 100 mL. Comparar observando las soluciones hacia abajo en tubos para comparación de color pareados contra una superficie blanca.

c. Acidez: A 2.0 mL de solución de propilparabeno preparada en la prueba de Color de la solución, agregar 3.0 mL de alcohol, 5.0 mL de agua libre de dióxido de carbono, 0.1 mL de verde de bromocresol SR y valorar con hidróxido de sodio 0.10 N: no se requiere más de 0.1 mL para producir un color azul.

d. Residuo de incineración: no más de 0.1%, determinado en 1.0 g.

e. Sustancias relacionadas: solución de prueba—Preparar una solución de Propilparabeno en acetona que contenga 10 mg por mL. Soluciones estándar—Transferir 0.5 mL de la solución de prueba a un matraz volumétrico de 100 mL, diluir a volumen con acetona y mezclar (solución estándar A). Disolver 10 mg de ER Etilparabeno USP, pesados con exactitud, en 1.0 mL de la solución de prueba y diluir con acetona hasta 10 mL (solución estándar B). Procedimiento—Aplicar por separado 2 mL de la solución de prueba y 2 mL de cada solución estándar sobre una placa para cromatografía en capa delgada recubierta con una capa de mezcla de gel de sílice octadecilsilanizado para cromatografía de 0.25 mm de espesor. Desarrollar el cromatograma en una fase móvil constituida por una mezcla de metanol, agua y ácido acético glacial (70:30:1) hasta que el frente de la fase móvil haya recorrido aproximadamente tres cuartos de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente de la fase móvil y dejar que el disolvente se evapore. Examinar la placa bajo luz UV de longitud de onda corta y comparar las intensidades de cualquier mancha secundaria observada en el cromatograma de la solución de prueba con las de la mancha principal del cromatograma de la solución estándar A: la intensidad de cualquier mancha secundaria individual en el cromatograma de la solución de prueba no es mayor que la de la mancha principal obtenida en el cromatograma de la solución estándar A (0.5%). La prueba no es válida a menos que el cromatograma obtenido con la solución estándar B muestre dos manchas principales claramente separadas.

f. Valoración: Transferir aproximadamente 1,000 g de Propilparabeno, pesado con exactitud, a un matraz con tapón de vidrio esmerilado. Agregar 20,0 mL de hidróxido de sodio 1N SV y calentar aproximadamente a 70°C durante 1 hora. Enfriar rápidamente en un baño de hielo. Valorar las soluciones a temperatura ambiente. Valorar el exceso de hidróxido de sodio con ácido sulfúrico 1N SV, continuando con la valoración hasta el segundo punto de inflexión y determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco. Cada mL de hidróxido de sodio 1N equivale a 180.2 mg de $C_{10}H_{12}O_3$.

7.5.2.7 Metil-parabeno

- a.** Identificación: Intervalo de fusión: entre 125°C y 128°C.
- b.** Color de la solución: Disolver 1 g en alcohol, diluir con alcohol hasta 10 mL y mezclar (Solución de metilparabeno). La solución es transparente y no tiene un color más intenso que el del alcohol o que una solución preparada inmediatamente antes de usar mezclando 2.4 mL de cloruro férrico SC, 1.0 mL de cloruro cobaltoso SC y 0.4 mL de sulfato cúprico SC con ácido clorhídrico 0.3N para obtener 10 mL, y diluyendo 5 mL de esta solución con ácido clorhídrico 0.3N para obtener 100 mL. Comparar observando las soluciones hacia abajo en tubos para comparación de color pareados contra una superficie blanca.
- c.** Acidez: A 2 mL de Solución de metilparabeno preparada en la prueba de Color de la solución, agregar 3 mL de alcohol, 5 mL de agua exenta de dióxido de carbono y 0.1 mL de verde de bromocresol SR y valorar con hidróxido de sodio 0.10 N: no se requiere más de 0.1 mL para producir un color azul.
- d.** Residuo de incineración: no más de 0.1%, determinado en 1.0 g.
- e.** Sustancias relacionadas: Solución de prueba—Preparar una solución de Metilparabeno en acetona que contenga 10 mg por mL. Soluciones estándar—Transferir 0.5 mL de la Solución de prueba a un matraz volumétrico de 100 mL, diluir a volumen con acetona y mezclar (Solución estándar A). Disolver 10 mg, pesados con exactitud, de ER Etilparabeno USP

en 1.0 mL de la Solución de prueba y diluir con acetona a 10 mL (Solución estándar B). Procedimiento—Aplicar por separado 2 mL de la Solución de prueba y 2 mL de cada Solución estándar sobre una placa para cromatografía en capa delgada recubierta con una capa de mezcla de gel de sílice octadecilsilanizado para cromatografía de 0.25 mm de espesor. Desarrollar el cromatograma en una fase móvil constituida por una mezcla de metanol, agua y ácido acético glacial (70:30:1) hasta que el frente de la fase móvil haya recorrido aproximadamente tres cuartos de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente de la fase móvil y dejar que el disolvente se evapore. Examinar la placa bajo la luz UV de longitud de onda corta y comparar las intensidades de las manchas secundarias observadas en el cromatograma de la Solución de prueba con la intensidad de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la Solución estándar A: la intensidad de cualquier mancha secundaria individual en el cromatograma de la Solución de prueba no es mayor que la de la mancha principal obtenida en el cromatograma a partir de la Solución estándar A (0.5%). La prueba no es válida a menos que el cromatograma obtenido con la solución estándar B muestre dos manchas principales claramente separadas.

f. Valoración: Aproximadamente a 1.0 g de Metilparabeno, pesados con exactitud, agregar 20.0 mL de hidróxido de sodio 1N SV y calentar aproximadamente a 70°C durante 1 hora. Enfriar rápidamente en un baño de hielo. Realizar la valoración de las soluciones a temperatura ambiente. Valorar el exceso de hidróxido de sodio con ácido sulfúrico 1N SV, continuando con la valoración hasta el segundo punto de inflexión y determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco. Cada mL de hidróxido de sodio 1N equivale a 152.1 mg de $C_8H_8O_3$.

7.5.2.8 Vaselina

a. Color: Fundir aproximadamente 10 g en un baño de vapor y verter aproximadamente 5 mL del líquido en un tubo de ensayo de vidrio

transparente de 156150 mm, manteniendo la vaselina fundida. La vaselina no es más oscura que una solución obtenida mezclando 3.8 mL de cloruro férrico SC y 1.2 mL de cloruro cobaltoso SC en un tubo similar; comparar ambos tubos con luz reflejada contra un fondo blanco, sosteniendo el tubo con la vaselina directamente contra el fondo en un ángulo que no provoque fluorescencia.

- b.** Peso específico: entre 0.815 y 0.880 a 60°C.
- c.** Intervalo de fusión: entre 38°C y 60°C.
- d.** Consistencia: Aparato—Determinar la consistencia de la Vaselina por medio de un penetrómetro equipado con un émbolo de metal pulido, de forma cónica, de 150 g y con una punta de acero desmontable de las siguientes dimensiones: la punta del cono tiene un ángulo de 30°C y está truncada con un diámetro de 0.381 ± 0.025 mm, la base de la punta es de 8.38 ± 0.05 mm de diámetro y la longitud de la punta es de 14.94 ± 0.05 mm. La porción restante del cono tiene un ángulo de 90°C, es de aproximadamente 28 mm de altura y un diámetro máximo de aproximadamente 65 mm en la base. Los recipientes para la prueba son cilindros metálicos de fondo plano de 100 ± 6 mm de diámetro y no menos de 65 mm de altura. Los recipientes son de metal de al menos 1.6mm (calibre 16) y cuentan con tapas impermeables al agua que ajustan bien.

Procedimiento—Colocar el número necesario de recipientes en un horno y calentar, junto con una cantidad de Vaselina, a una temperatura de $82 \pm 2.5^\circ\text{C}$; luego verter la Vaselina en uno o más de los recipientes, llenando hasta 6 mm del borde. Enfriar a $25 \pm 2.5^\circ\text{C}$ en un periodo no menor de 16 horas, protegiéndolos de las corrientes de aire. Dos horas antes de la prueba, colocar los recipientes en un baño de agua a $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$. Si la temperatura ambiente es menor de 23.5°C o mayor de 26.5°C , ajustar la temperatura del cono a $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ colocándolo en el baño de agua. Sin alterar la superficie de la sustancia en análisis, colocar el envase sobre la mesa del penetrómetro y bajar el cono hasta que la punta toque apenas la superficie superior de la sustancia, en un punto situado entre 25 mm y 38 mm del borde del

recipiente. Ajustar el cero, liberar rápidamente el émbolo y dejarlo libre durante 5 segundos. Sujetar el émbolo y tomar la lectura de la penetración total en la escala. Hacer tres o más ensayos, espaciándolos de forma tal que las áreas de penetración no se superpongan. Si la penetración excede de 20 mm, usar un recipiente distinto para cada ensayo. Tomar la lectura de la penetración con una aproximación de 0.1 mm. Calcular el promedio de tres o más lecturas y realizar ensayos posteriores hasta un total de 10 si la desviación de los resultados individuales excede +3% del promedio: el promedio final de los ensayos no es menos de 10.0 mm ni más de 30.0 mm, lo que indica un valor de consistencia entre 100 y 300.

- e. Acidez: Si la adición de fenolftaleína SR en la prueba de Alcalinidad no produce un color rosado, agregar 0.1 mL de anaranjado de metilo SR: no se produce un color rojo ni rosado.
- f. Alcalinidad: Introducir 35 g en un vaso de precipitados adecuado, agregar 100 mL de agua hirviendo, tapar y colocar en una placa de calentamiento, mantenida en el punto de ebullición del agua y mezclando. Después de 5 minutos, dejar que las fases se separen. Extraer el agua separada y transferir a una cápsula, lavar la vaselina con dos porciones de 50 mL de agua en ebullición y agregar los lavados a la cápsula. Agregar a los lavados combinados 1 gota de fenolftaleína SR y calentar hasta ebullición: la solución no adquiere un color rosado.
- g. Residuo de incineración <281>: Calentar 2.0 g en una cápsula de porcelana o platino abierta, sobre la llama de un mechero de Bunsen: se volatiliza sin que emane un olor acre y su incineración no produce más de 0.1% de residuo.
- h. Ácidos orgánicos: Pesar 20.0 g, agregar 100 mL de una mezcla 1 en 2 de alcohol neutralizado y agua, agitar bien y calentar hasta ebullición. Agregar 1 mL de fenolftaleína SR y valorar rápidamente con hidróxido de sodio 0.1N SV, agitando vigorosamente, hasta un punto final rosado definido, comprobando el cambio de color en la capa de alcohol y agua: no se requiere más de 400 mL de hidróxido de sodio 0.100 N.

- i. Aceites fijos, grasas y colofonia: Digerir 10 g con 50 mL de hidróxido de sodio 5N a 100°C durante 30 minutos. Separar la capa de agua y acidificarla con ácido sulfúrico 5N: no se separa una sustancia aceitosa o sólida.

7.5.3 Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

7.5.3.1 Preparación de patrón:

Se prepara una solución utilizando el jarabe enzimático de 50g, aforando en un balón de 100 ml, se identifica la concentración del jarabe. De este, se parte para las siguientes; se toma una alícuota para dilución de 25ml, 12.5ml y 6.75ml. Para leer las muestras de los jarabes, según metodología indicada por Skoog (2008), en su libro Principios de Análisis Instrumental; a partir de la concentración obtenida se realizan las diluciones pertinentes para obtener una curva de calibración que tiene aproximadamente un r: 0.9996.

7.5.3.2 Cuantificación de las muestras

A partir del patrón obtenido, se toma una alícuota, dichas soluciones se filtran para eliminar las pequeñas partículas en la solución. Seguido se colocan las muestras en el equipo. Este es programado para utilizar como fase móvil metanol:agua 90:10, a un flujo de 0.5mL/min, longitud de onda de 325 nm y con un volumen de inyección de 20 µL. La columna utilizada es una Hypersil ODS 200 x 2.1 mm 5 um.

7.5.4 Realización del Jarabe simple:

7.5.4.1 Formula Cualitativa-Cuantitativa del Jarabe simple

Componentes	Cantidad
Sacarosa	640 g
Agua destilada	360 ml
Metil-parabeno	0.05g
Propil-parabeno	0.15g

7.5.4.2 Densidad Relativa:

Viscosímetro de Brookfield

7.5.4.3 Adición de las enzimas diastasa e invertasa al jarabe:

Las abejas serán trituradas por medio de un molino, para que de esta manera se obtenga un polvo uniforme.

Se pesará la cantidad de polvo para cada prueba con el jarabe. Se realizará una prueba con 5g de abejas, 15g de abejas, 25g de abejas y 50g de abejas cada 100ml de jarabe de sacarosa. Esto para determinar si la cantidad de abejas añadida afecta la cantidad de glicerina y jarabe de fructosa obtenidos.

Al pesar estas cantidades, estas serán agregadas al jarabe de sacarosa, mezclándolas de manera uniforme con el jarabe. Para obtener el máximo funcionamiento de las enzimas, los jarabes serán sometidos a un calentamiento de 36°C, 50°C y 60°C durante 8 días. Se utilizará la elevación de la temperatura para acelerar su proceso enzimático.

Posterior a esto se realizará una prueba cualitativa para determinar la presencia de azúcares reductores en los jarabes, antes de realizar un análisis cuantitativo.

El jarabe será filtrado, removiendo así los residuos de abejas del mismo y posteriormente será analizado para detectar la presencia de azúcares reductores.

7.5.5 Reactivo de Benedict para la identificación cualitativa de azúcares reductores:

Se debe de agregar 1.73g de CuSO_4 + 1.73g de citrato de sodio + 10g de Na_2CO_3 (anhidro) y diluirlo en 100ml de agua destilada.

Se tomará una muestra de jarabe de sacarosa inicial para determinar si contienen presencia de azúcares reductores. Posterior al proceso de investigación se realizará otra prueba de Benedict, para determinar si hay o no presencia de los azúcares reductores, si diera positivo, se pasará a proceder con la prueba de Felhing.

7.5.6 Preparación productos para la industria

7.5.6.1 Jarabe de Acetaminofén

Formula Cualitativa-Cuantitativa

Materia Prima	Cantidad
Acetaminofén	6.5g
Alcohol etílico 96%	9ml
Agua purificada	2ml
Mezcla de Jarabe de fructosa, glicerina y sacarosa	65ml

Forma de Preparación: Mezclar el alcohol y el agua purificada; disolver el acetaminofén. Calentar el jarabe de 50-60°C, y mezclar con la solución anterior.

- **Análisis del Jarabe:**
 - Características organolépticas:
 - ✓ Aspecto: Líquido viscoso
 - ✓ Color: De incoloro a amarillo claro
 - ✓ Olor: dulce
 - pH: 7-9
 - Uniformidad: sin partículas visibles y sin precipitado
 - Densidad: 1.3-1.4
 - Análisis microbiológico:
 - ✓ Aerobios totales máximo de 100UFC/G
 - ✓ Mohos y levaduras 10UFC/G
 - ✓ *E.Coli* no debe de presentarse

7.5.6.2 Crema Humectante:

Materia Prima	Cantidad
Cera de abejas	20g
Vaselina Líquida	50g
Borato de sodio	1g
Agua destilada	29ml
Mezcla de jarabe de fructosa, glicerina y sacarosa	c.s

Forma de preparación: Fundir la cera de abeja y la vaselina a 50°C, mezclar el borato de sodio y posteriormente agrega el agua destilada. Todo el tiempo agitar la mezcla y agregar la mezcla de jarabe de fructosa, glicerina y sacarosa hasta lograr viscosidad deseada.

- **Análisis de la Crema:**

- Controles fisicoquímicos

- pH: 6-7

Medición de pH: dispersar aproximadamente 1.0g de producto en 10ml de agua destilada y medir el pH con potenciómetro.

- Viscosidad: 63-66

Viscosidad aparente: se mide en 12g de producto, utilizando el viscosímetro rotacional Brookfield. Registrar la velocidad de giro y el husillo utilizado.

- Color: de blanco a amarillento

- Aspecto: emulsión viscosa de aspecto agradable y buena penetración.

- Microbiológicos

✓ Aerobios: menor de 100 UFC/G

✓ Peso específico: se determina por pesada de picnómetro con producto con agua y vacío.

7.5.6.3 Jalea de fruta:

Materia Prima	Cantidad
Naranjas	4 naranjas
Mezcla de Jarabe de Fructosa, Glicerina y sacarosa	200ml
Benzoato de Sodio	0.05g/100ml
Limón	1 limón
Azúcar	200g
Agua Destilada	500ml

Forma de Preparación: Pelar las naranjas, quitándoles toda la parte blanca de la cascara. Cortar la naranja en cubos y la cascara en tiras delgadas. En una olla verter las cascaras, dejándolas hervir durante 5 minutos. Agregar los cubos de naranja. Añadir la mezcla de jarabe de fructosa, glicerina y sacarosa, junto con el azúcar y el jugo de limón. Cocinar hasta que reduzca, agitando constantemente.

Cuando espese la preparación y tome un color brillante se debe de retirar del calor.

- **Análisis de la Jalea:**

- Sólidos solubles por lectura (°Brix) a 20°C: Mínimo 64%, máximo 68%.
- pH: 3.25 – 3.75.
- Contenido de alcohol etílico en %(V/V) a 15°C/15°C: Máximo 0.5.
- Conservante: Benzoato de Sodio y/o Sorbato de Potasio (solos o en conjunto) en g/100 ml.: máximo 0.05
- Control Microbiológico:
 - ✓ Debe estar libre de bacterias patógenas.
 - ✓ Se permite un contenido máximo de moho de cinco campos positivos por cada 100.
 - ✓ Bacterias Aerobias: menor a 100 UFC/g.

7.5.7 Evaluación de estabilidad aplicada a productos

Estas pruebas que se efectuarán para obtener información sobre las condiciones en las que se deben procesar y almacenar los productos terminados. Las pruebas de estabilidad también se emplean para determinar la vida útil del producto en su envase original y en condiciones de almacenamiento especificadas.

7.5.7.1 Jarabe de acetaminofén

Las condiciones del estudio de estabilidad acelerada que no requieran refrigeración ni congelación son: temperatura controlada de 40°C±2°C para formas farmacéuticas líquidas y semisólidas en un periodo de 6 meses (180 días). Los intervalos analíticos deben ser, el inicial (día 0), intermedios (días 30, 60, 90) y el final (día 180). En cada intervalo se realizarán 2 repeticiones para cada análisis.

Las características a evaluar en una suspensión son:

- a. Análisis químico: Concentración de principio activo
- b. Análisis físico: Características organolépticas, pH, homogeneidad, suspendibilidad.
 - Organolépticas: color, olor, aspecto.
 - pH: tomar una tira de papel pH, e introducirla en un tubo de ensayo con 10 mL del jarabe y verificar que tenga entre 7-9, que es el pH aceptable.
 - Homogeneidad: Colocar sobre un porta objeto una gota de la suspensión, colocar sobre esta un cubre objeto, se tiene que observar que la muestra está distribuida homogéneamente.
 - Suspendibilidad de partícula: Agitar vigorosamente el envase y observar si se suspenden las partículas de una forma homogénea.

7.5.7.2 Crema humectante

Al igual que el jarabe de acetaminofén, las condiciones del estudio de estabilidad para la crema humectante son las mismas: temperatura controlada de $40^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ para formas farmacéuticas líquidas y semisólidas en un periodo de 6 meses (180 días). Los intervalos analíticos deben ser, el inicial (día 0), intermedios (días 30, 60, 90) y el final (día 180). En cada intervalo se realizarán 2 repeticiones para cada análisis.

Las características a evaluar en un producto cosmético son:

- a. Características organolépticas (aspecto, color y olor)
- b. Pruebas físicas:
 - a) pH
 - b) Densidad (cuando aplique)
 - c) Viscosidad (cuando aplique)

7.5.7.3 Jalea de fruta

La estabilidad de un alimento ha sido controlada por diferentes factores: calentamiento, enfriamiento, secado, salado, conservado, aumentando su acidez, removiendo el oxígeno, fermentando, añadiendo preservantes, etc. y a menudo esos métodos son aplicados en combinación unos con otros. En este estudio, la estabilidad de la jalea de frutas se medirá únicamente mediante el calentamiento a una temperatura controlada de $40^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Las características a evaluar en un alimento son:

- a. Características organolépticas (aspecto, sabor, color y olor)
- b. Pruebas físicas: a) pH (3.25 – 3.75).
- c. Control Microbiológico: Debe estar libre de bacterias patógenas, se permite un contenido máximo de moho de cinco campos positivos por cada 100 y bacterias Aerobias es menor a 100 UFC/g.

7.5.8 Inocuidad microbiológica del Jarabe de Sacarosa

- Análisis microbiológico:
 - ✓ Aerobios totales máximo de 100UFC/G
 - ✓ Mohos y levaduras 10UFC/G
 - ✓ *E.Coli* no debe de presentarse

7.5.9 Análisis estadístico

7.5.9.1 Estadística Descriptiva:

Se utilizará estadística descriptiva para realizar el análisis de los datos obtenidos.

7.5.10 Prueba de medición del grado de satisfacción de productos terminados

En esta fase de la investigación, se analizará el grado de satisfacción para obtener mayor información acerca de los productos terminados, en las cuales el juez expresa su reacción subjetiva ante el producto, indicando si le gusta o le disgusta, si lo acepta o lo rechaza, o si lo prefiere a otro. El método utilizado para realizar la medición será la evaluación sensorial por medio de la escala Hedónica verbal, en donde se podrá medir las sensaciones placenteras o desagradables producidas por el producto. El análisis estadístico se realiza por medio de estadística descriptiva.

8. RESULTADOS

Tabla No. 1: Resultados Cualitativos de la Reacción de Fehling

CANTIDAD DE ABEJAS	TEMPERATURA EN °C	CLASIFICACIÓN
5g	45	++
10g	45	+++
15g	45	++
25g	45	+++
50g	45	+++
5g	60	+
10g	60	+
15g	60	++
25g	60	+
50g	60	++
5g	37	++
10g	37	++
15g	37	+
25g	37	++
50g	37	+++
Control	45	+
Control	60	+
Control	37	+

Fuente: Datos experimentales

+ POCO PRECIPITADO

++ CANTIDAD DE PRECIPITADO MEDIANAMENTE ABUNDANTE

+++ CANTIDAD DE PRECIPITADO ABUNDANTE

DESCRIPCIÓN DE LA TABLA No.1: Esta fue una prueba cualitativa basada en la reacción de Fehling en presencia de azúcares reductores. Se observó la presencia de precipitado color rojizo en las muestras, los parámetros de comparación fueron las soluciones control que presentaron también un precipitado color rojizo. Por lo que se colocó como “poco precipitado” la cantidad de precipitado de los controles (en los cuales se observaron cantidades similares de precipitado), “cantidad precipitado medianamente

abundante” se denoto a una cantidad de precipitado el doble en referencia a la del control y por ultimo “cantidad de precipitado abundante” si se observó un precipitado mayor al doble del control.

Tabla No.2: Resultados de Cuantitativos de la Reacción de Fehling:

Muestra a 45°C	Azucres Totales	Azucres Reductores (Glucosa y Fructosa)
50 gramos de Abejas	56.60%	0.86%
25gramos de Abejas	58.38%	0.21%
10gramos de Abejas	58.22%	6.10%
Control	56.91%	0.13%

Fuente: Datos experimentales

Tabla No.3: Resultados de HPLC en base a formación de fructosa y glicerina

Muestra a 45°C	Sacarosa	Glucosa	Fructosa	Glicerina
50 gramos de Abejas	1.01605%	4.10468%	2.87421%	0.08450%
25gramos de Abejas	1.03603%	4.02851%	2.79173%	0.09120%
10gramos de Abejas	1.03146%	3.97260%	2.73555%	0.04853%
Estándar*	1.56907%	5.96368%	3.56330%	0.79473%

Fuente: Datos experimentales

*El estándar de referencia fue una solución que contenía: 10% de cada uno de los principios a analizar (sacarosa, glucosa, fructosa y glicerina).

Tabla No.4: Resultados de los análisis de estabilidad acelerada de los productos terminados

Muestras		Características	Características	Características
		física	Químicas	Microbiológicas
Jarabe de Acetaminofén	0 días	CUMPLE	CUMPLE	CUMPLE
	30 días	CUMPLE	CUMPLE	CUMPLE
	60 días	CUMPLE	CUMPLE	CUMPLE
	90 días	CUMPLE	CUMPLE	CUMPLE
	180 días	CUMPLE	CUMPLE	CUMPLE
Crema Humectante	0 días	CUMPLE	CUMPLE	CUMPLE
	30 días	CUMPLE	CUMPLE	CUMPLE
	60 días	CUMPLE	CUMPLE	CUMPLE
	90 días	CUMPLE	CUMPLE	CUMPLE
	180 días	CUMPLE	CUMPLE	CUMPLE
Jalea de Naranja	0 días	CUMPLE	NO APLICA	CUMPLE
	30 días	CUMPLE	NO APLICA	CUMPLE
	60 días	CUMPLE	NO APLICA	NO CUMPLE
	90 días	CUMPLE	NO APLICA	NO CUMPLE
	180 días	CUMPLE	NO APLICA	NO CUMPLE

Fuente: Datos experimentales

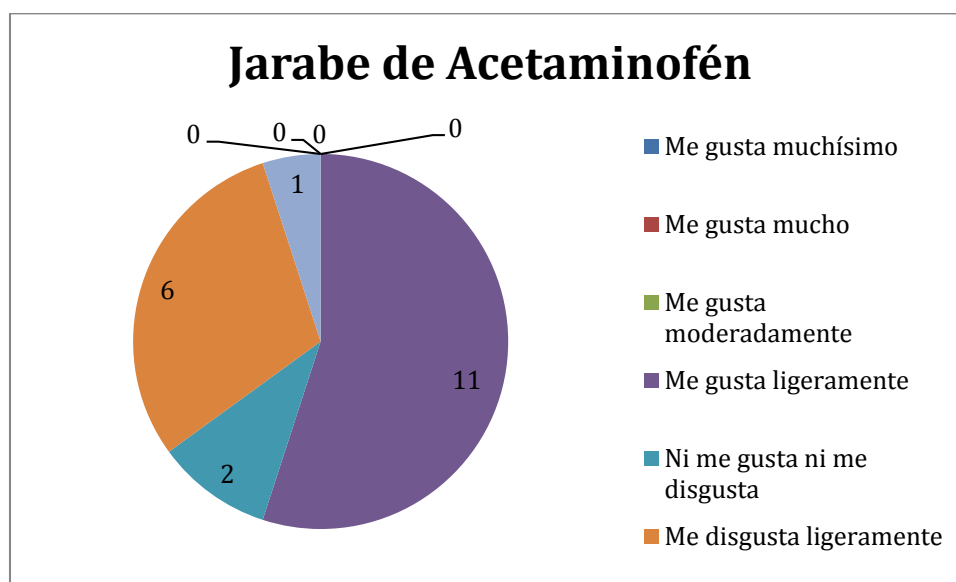
Tabla No.5: Resultados de la evaluación al consumidor

No.	Especificación	Jarabe de acetaminofén	Jalea de Naranja	Crema Humectante
1	Me gusta muchísimo	0	0	0
2	Me gusta mucho	0	1	7
3	Me gusta moderadamente	0	13	9
4	Me gusta ligeramente	11	4	2
5	Ni me gusta ni me disgusta	2	1	2
6	Me disgusta ligeramente	6	0	0
7	Me disgusta moderadamente	1	1	0
8	Me disgusta mucho	0	0	0
9	Me disgusta muchísimo	0	0	0
TOTAL DE PERSONA ENCUESTADAS		20	20	20

Fuente: Datos experimentales

Grafica No.1: Jarabe de Acetaminofén

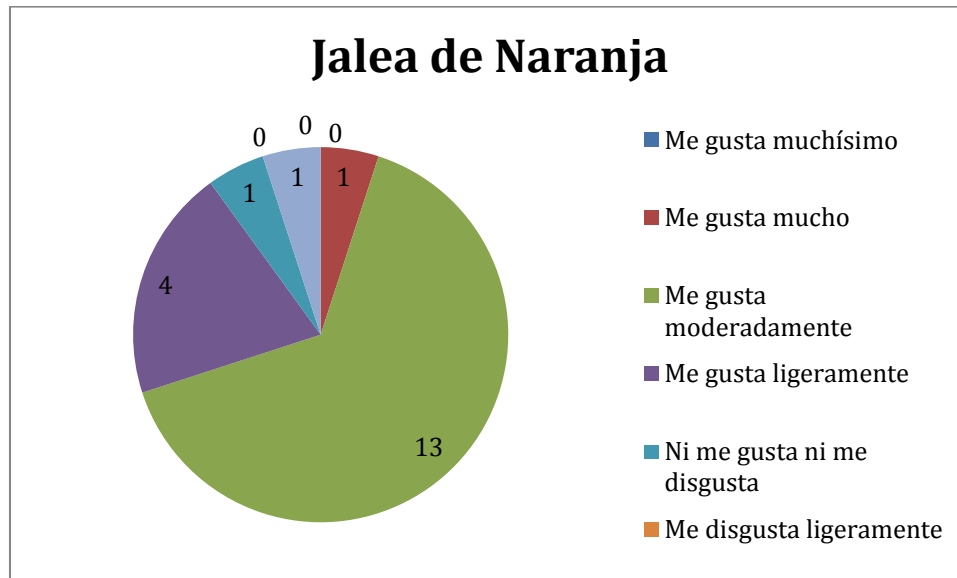
GRAFICA CON NÚMEROS DE LOS ENCUESTADOS



Fuente: Datos experimentales

Grafica No.2: Jalea de Naranja

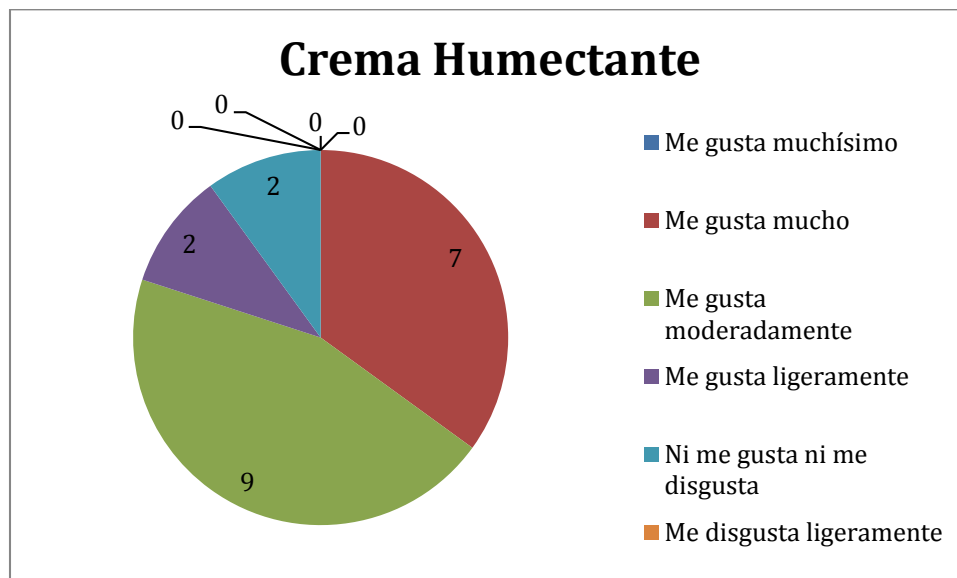
GRAFICA CON NÚMEROS DE LOS ENCUESTADOS



Fuente: Datos experimentales

Grafica No.3: Crema Humectante

GRAFICA CON NÚMEROS DE LOS ENCUESTADOS



Fuente: Datos experimental

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En esta investigación se pretendía demostrar que, al agregar una cantidad determinada de abejas muertas y molidas, sus componentes (suponiendo que la que realiza el mayor trabajo es la enzima invertasa), eran activos y capaces de producir a partir de jarabe a base de sacarosa, productos como la glicerina y fructosa (por medio de la descomposición de la sacarosa). Para este fin, se utilizaron abejas melíferas obreras, ya que solo estas poseen glándulas hipofaríngeas necesarias para la secreción de las enzimas de interés. Además, es necesario subrayar que a pesar que las enzimas se encuentren únicamente en las glándulas hipofaríngeas, se muele toda la abeja ya que por estar en posición de reposo, todo el sistema digestivo y glándulas se contraen en el tórax y abdomen (Enríquez; Eunice & Maldonado, Carlos; 2008).

Luego de haber transcurrido los 8 días, y ser filtrada cada muestra, para eliminar los residuos de la abeja molida, a cada jarabe de azúcar ahora enzimático se le realizó la prueba cualitativa de Felhing como se puede observar en la tabla No.1 y anexo 3, en donde se determinó que la mejor temperatura para la conversión de sacarosa en azúcares reductores (fructosa y glucosa) es la de 45°C. Habiendo identificado la temperatura ideal mediante la coloración obtenida de la reacción. Para obtener resultados exactos, era necesario realizar la cuantificación de los componentes formados en la reacción, y para ello, se realizó la prueba cuantitativa de Fehling (Tabla No.2). Esta prueba demostró que la cantidad inicial de sacarosa disminuyó y los azúcares reductores aumentaron. Pero no se puede relacionar con el control inicial, ya que algunas de las muestras presentan mayor concentración de sacarosa inicial, por lo que se decidió optar por un método más sensible, el Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC por sus siglas en ingles).

Se prepararon las muestras de 10g, 25g y 50g a temperatura de 45°C, las cuales arrojaron mejores resultados en la prueba cualitativa. A partir de los resultados obtenidos en base a la fructosa (ver tabla No.3), se observa que la concentración de sacarosa en base a la inicial (control) disminuyó en las tres muestras. Esto se puede suponer debido a la reacción efectuada por las enzimas invertasa y diastasa presentes

en las abejas, que están degradando la sacarosa en fructosa y glucosa, y posteriormente producen glicerina. Para verificar esto se realizó la determinación de glicerina en las muestras como se puede observar en la tabla No.3. Se observó que, al disminuir la cantidad de sacarosa de las muestras, aumento la cantidad de glicerina presente en las mismas. El mejor resultado obtenido fue el de la muestra de 25 gramos de abejas.

La información de la reacción de Felingh determinó que los mejores parámetros para trabajar la obtención de glicerina por este método, es de 25 gramos de abejas a 45°C por 8 días. Esto se debe a que la invertasa tiene un rango de tolerancia de temperatura de 25-55°C, por lo que la temperatura de 60°C sobrepasa su límite de tolerancia por lo que la enzima se empieza a desintegrar. En cuanto a los 37°C por ser temperatura cercana a la del ambiente, no se acelera de manera significativa la eficiencia de las enzimas como lo establece Enríquez; Eunice & Maldonado, Carlos en su estudio titulado “Miel de abejas nativas de Guatemala”.

Al haber identificado las condiciones óptimas a las cuales se debían de trabajar, y cumpliendo con los objetivos planteados en esta investigación, se realizaron tres productos para determinar la utilidad de los elementos formados (un cosmético, un alimento y un producto farmacéutico) a partir del jarabe de azúcar enzimático utilizando para ello el proceso elegido con anterioridad. Cada uno de los productos elaborados se sometieron a un estudio de estabilidad acelerada, para determinar su inocuidad microbiológica (por medio de análisis microbiológicos), estabilidad (por medio de análisis fisicoquímicos) y vida útil (análisis fisicoquímicos y microbiológicos en conjunto) utilizados como espesante en su formulación. Los productos a realizar fueron: una crema humectante, jalea de naranja y jarabe de acetaminofén.

Como se observa en los resultados, el jarabe de acetaminofén y la crema humectante cumplieron con los análisis de estabilidad hasta 6 meses. Ya que los productos mantienen su estabilidad física, microbiológica y química (según los métodos establecidos para el análisis de los productos según USP XXXII y explicados en la sección de métodos); manteniéndose en los parámetros establecidos (Ver Anexo 6).

En el caso de la jalea de naranja, cumplió los parámetros físicos y organolépticos durante los seis meses, más el estudio microbiológico se vio alterado a los dos meses.

Se pudo reducir las cantidades microbiológicas y dejarlas dentro de los parámetros del producto, gracias a que el jarabe de azúcar utilizado para las mezclas fue sometido a esterilización húmeda por medio de autoclave. Primero se analizó el jarabe de sacarosa y se obtuvo un análisis microbiológico por arriba de los parámetros permitidos por lo que se realizó la esterilización. Posteriormente se realizó otro análisis microbiológico del jarabe donde los parámetros cumplieron (Ver Anexo 7).

Así mismo, y como parte de la investigación, se les realizó a los productos terminados (jarabe de acetaminofén, crema humectante y jalea de naranja) una serie de análisis sensoriales, por medio de la medición del grado de satisfacción. Para ello se realizó una encuesta o evaluación a un grupo de personas control escogidos de forma aleatoria (20 personas) en la que se les cuestionaba y se les pedía que indicaran el grado de aceptación de los tres productos por medio de una escala hedónica, esto para conocer la opinión del encuestado. Los resultados obtenidos fueron tabulados y graficados como se observa en la tabla No. 5 y graficas No. 1, 2 y 3, en donde el consumidor respondió de manera aceptable a las interrogantes.

En el caso del jarabe de acetaminofén, 11 de las 20 personas encuestadas marcaron el criterio “me gusta ligeramente” para describir al producto; 6 personas de las 20 se inclinaron por “me disgusta ligeramente”; 2 personas marcaron “ni me gusta ni me disgusta” y en menor cantidad “me disgusta moderadamente” (1 persona). Siendo la mayoría las personas a las que les pareció aceptable el producto.

Las personas encuestadas en el caso de la jalea de naranja mostraron una mayor aceptabilidad, ya que fueron 13 personas de las 20 las que marcaron el criterio “me gusta moderadamente” con mayor puntaje que “me gusta ligeramente” en donde solo marcaron 4 personas en comparación con las 11 personas que marcaron ese criterio en el jarabe de acetaminofén. Las personas restantes, mostraron mayor dispersión en el resultado y se distribuyó de la siguiente manera: 1 persona marcó “me gusta mucho, 1

persona marco “ni me gusta ni me disgusta” y 1 persona marco “me disgusta moderadamente”, siendo un total de 20 personas las encuestadas.

Los resultados de la crema humectante se mostraron menos dispersos, ya que la mayoría de los encuestados mostraron una mejor aceptación al calificarla con los criterios de aprobación más altos. 7 de las 20 personas encuestadas marcaron “me gusta mucho”, a 9 personas les gusto moderadamente y el resto marcaron “me gusta ligeramente” (2 personas) y “ni me gusta ni me disgusta” (2 personas).

10. CONCLUSIONES

- 10.1** El proceso enzimático por el que pasa la abeja muerta, permite producir glicerina y fructosa. Suponiendo que las enzimas que más reaccionan con los componentes son la diastasa e invertasa con la sacarosa.
- 10.2** Según los resultados de las muestras obtenidas en esta investigación, las enzimas de interés presentes en la abeja (diastasa e invertasa), trabajan mejor en una temperatura de 45°C y con una concentración de abejas de 25 gramos.
- 10.3** Los productos cosmético y farmacéutico elaborados cumplieron con las pruebas de control de calidad según las especificaciones de la Pharmacopea USP XXXII y el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA).
- 10.4** Los productos elaborados (jarabe de acetaminofén, jalea de naranja y crema humectante) fueron aceptados por las personas encuestadas según la medición del grado de satisfacción.
- 10.5** Los productos conservaron sus propiedades según los parámetros de control de calidad durante el tiempo por el que fueron sometidos a estudios de estabilidad.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1** Realizar estudios basados en la identificación de las enzimas diastasa e invertasa, que permitan determinar si efectivamente estas son las causantes de la producción de glicerina.
- 11.2** Efectuar un estudio de estabilidad a largo plazo de los productos farmacéuticos y cosméticos, para determinar su fecha de caducidad.
- 11.3** Realizar un estudio del costo monetario de la fabricación de productos en base a la utilización de abejas para la producción de la glicerina, determinando si se obtiene un mejor costo o bien es más caro.

12. ANEXOS

ANEXO No. 1: Características de las Abejas y sus Enzimas

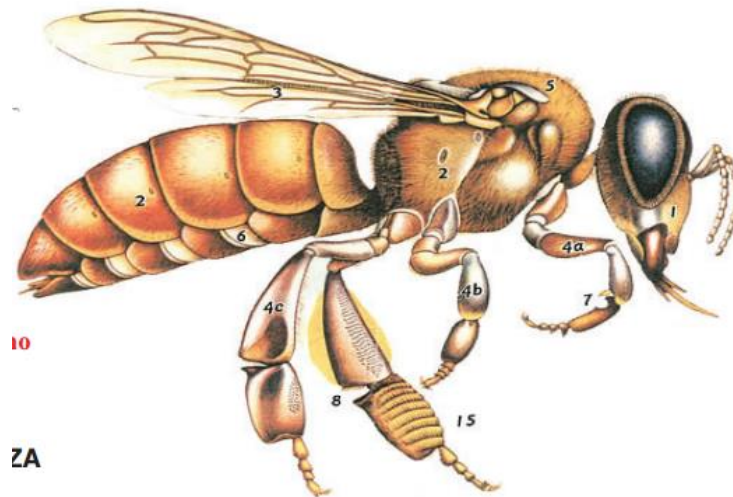
ABEJA

Anatomía Externa

El cuerpo de la abeja se divide en tres partes como los insectos: cabeza, tórax y abdomen. Su cuerpo tiene un esqueleto externo quitinoso y duro cubierto con pelo denso. Tienen 3 pares de patas, 1 par de antenas y 2 pares de alza membranosa (Sammataro, 2005).

La armadura que le da sostén al cuerpo de la abeja no es interna; como sucede en los mamíferos, sino que es externa y está formada por una sustancia córnea llamada quitina.

Figura No.7: Anatomía Externa de la abeja



1. Cabeza
 2. Estigmas o espiráculos
 3. Alas
 - 4a. primer par de patas
 - 4b. Segundo par de patas
 - 4c. Tercer par de patas
 5. Tórax
 6. Abdomen
 7. Pelos limpiadores antena
 8. Prensa polen.
- Fuente: Islapro, 2004

- **Ojos:**

Dos ojos compuestos que están colocados a los lados izquierdo y derecho. Estos ojos les sirven a las abejas para ver a distancia y fuera de la colmena. Así mismo colocados en triángulo, cuyo vértice es hacia afuera se encuentran los denominados ojos simples, éstos sirven a las abejas para ver en la oscuridad, coronando la cabeza.

- **Antenas:**

En la parte anterior se encuentran un par de antenas, cada antena está formada por artejos, éstos en número de doce, son de diferente tamaño, el primero va unido a la cabeza, siendo mayor que los otros once restantes, haciendo notar que en el zángano son trece, las antenas se encuentran recubiertas por un gran número de pelos. En las antenas se encuentran asentados los sentidos del tacto, gusto, olfato y oído. Invariablemente la abeja palpa todo aquello que está a su alcance, poniendo en función sus cuatro órganos externos.

- **Tórax:**

La parte central, el tórax, se lo considera como el centro locomotor, puesto que está provisto de músculos fuertes y cortos, que aseguran el movimiento de las alas y el rápido desplazamiento por medio de sus patas. El tórax esta densamente cubierto por pelos finos, va unido a la cabeza a través del cuello, que es delgado y corto.

El tórax es formado por tres segmentos, de adelante hacia atrás; protórax, mesotórax y metatórax, (dándole el nombre a cada par de patas que se asientan en él y sosteniendo en su dos posteriores las alas). Cada uno de éstos está formado por cuatro partes, una lámina dorsal, otra ventral y dos laterales (Rodríguez, 2007)

El protórax lleva en su parte posterior y una a cada lado el primer par de patas, así como el primer respiradero traqueal. El mesotórax toma en su

parte superior la forma de escudillo llamado noto y en esta parte encontramos el primer par de alas, colocadas una a cada lado. Las alas, de forma subtriangular, son membranosas y están atravesadas por numerosas nervaduras que le dan solidez. Las alas posteriores son menores que las anteriores y llevan en su borde superior cierto número de ganchos que se afianzan al borde trasero del ala delantera, formando durante el vuelo una gran ala.

El metatórax es el tercer segmento del tórax y lleva dos prolongaciones donde se asienta el 2o. par de alas, así como en la parte central y lateralmente se encuentran las cavidades articulares para la inserción del 3o. par de patas agregando a la anterior, el 2o. par de espiráculos traqueales (Padilla, 2003).

- **El abdomen:**

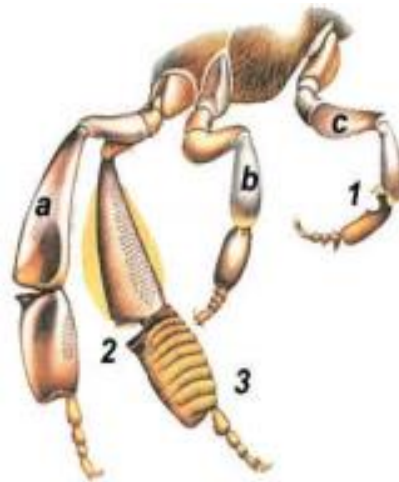
El abdomen tiene nueve segmentos (anillos) retractiles, de los cuales seis son visibles (el segmento inicial es parte del centro del cuerpo); en el zángano siete son visibles y tienen la forma de un barril. Cada anillo tiene dos partes, una de mayor longitud que la otra con parte dorsal más grande de la parte ventral. Los segmentos se unen entre sí por membranas finas de gran flexibilidad que le permiten alargarlo o contraerlo, lo que se observa en la respiración o por expansión cuando las abejas tienen mucho néctar dentro su bolsa melaria.

En la parte inferior las obreras poseen ocho glándulas cerera y en su extremo superior están ubicadas las glándulas de Nasanof (arriba) el aguijón (abajo.) Dentro del abdomen se encuentra el sistema digestivo mayor de la abeja (Rodríguez, 2007).

- **Las Patas**

Los tres pares de patas; anteriores, medios y posteriores, van articuladas, al pro, meso y metatórax. Cada pata consta de diferentes segmentos articulados: coxa o anca, trocanter, fémur, tarso y pretarso. Todas las patas están cubiertas densamente por pelos largos del mismo color que el cuerpo de la abeja. El último segmento articulado; el pretarso lleva dos fuertes ganchos llamados también bilobulares, en medio de las cuales se encuentra una ventosa que permite a la abeja caminar por superficies lisas.

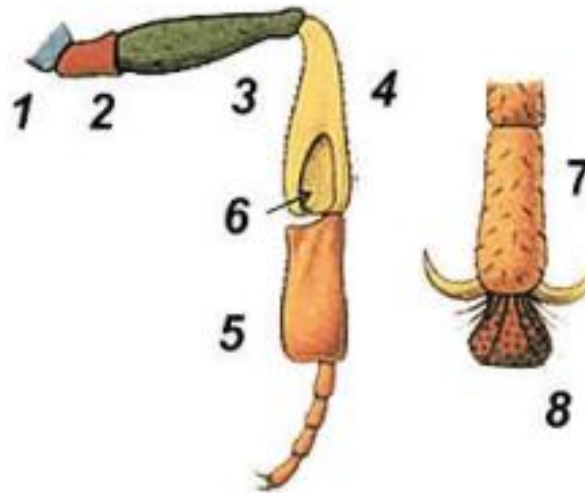
Figura No.8: Patas de la abeja



a. Tercer par de patas b. segundo par de patas c. primer par de patas. 1. Pelos limpiadores de antena 2. Prensa de polen. 3. Pelos. Fuente: Islapro, 2004

Las seis patas poseen cepillos para recoger el polen; las patas delanteras llamadas “palmas” son limpiadoras especialmente para las antenas. Las patas en la mitad tienen en su parte inferior una punta o espolón recto para transferencia de las hojas de cera a las mandíbulas de la boca para preparar cera con la que construyen panales o cubren celdas con ninfas o miel madura. Las patas traseras, el tercer par, poseen las tibias ensanchadas y con pelos formando una cestilla (o canasta), llamada corbícula en la que depositan y trasladan el polen desde la flor hasta la colmena (Rodríguez, 2007).

Figura No.9: Primer par de patas y sus secciones



1. Coxa 2. Trocantes 3. Fémur 4. Tibia 5. Tarso 6. Corbícula 7. Uñas 8. Empodium.

Fuente: Islapro, 2004

Evolución

Las abejas, al igual que las hormigas, evolucionaron a partir de avispas. Los antepasados de las abejas eran miembros de la familia Crabronidae y eran depredadores de insectos. Es posible que las primeras abejas se hayan alimentado del polen que cubría a algunas de sus presas y que, gradualmente, hayan empezado a alimentar a sus crías con polen en vez de insectos. Están adaptadas para alimentarse de polen y néctar, usando el primero fundamentalmente como alimento para las larvas y el segundo como material energético.

Las abejas tienen su génesis en el viejo mundo, en el continente africano, evidencia irrefutable de esto es la gran variedad de genotipos y fenotipos encontrados a lo largo de este continente en comparación con otras partes del globo terráqueo. Las abejas según migran a Europa se aclimatan a un ambiente templado, pero sus parentales se pueden trazar hasta el trópico de África. Las abejas melíferas europeas fueron traídas al nuevo mundo por los colonizadores y son descendientes de un grupo relativamente pequeño de abejas que fueron trasladadas hace unos 400 años, aunque hay que añadir

a esto el efecto de las importaciones que se han hecho desde esa fecha. Aun así, las abejas de nuevo mundo tienden a ser más uniformes genotípicamente y fenotípicamente que las abejas del Viejo Mundo (INPE, 2005).

Hábitat

Las abejas viven en grandes sociedades llamadas colonias (de unos 20,000 a 50,000 individuos) perfectamente organizadas, donde cada individuo realiza una función determinada de acuerdo a su edad y desarrollo físico. Es un insecto que no puede sobrevivir mucho tiempo solo si no forma parte de una colonia o familia, con la cual liga todas sus acciones. El hogar de las abejas se llama colmena. Dentro de la colmena se observan tres categorías de individuos: una sola abeja reina (hembra), los zánganos (machos) y las abejas obreras (hembras).

En primavera y verano, solo las abejas obreras más viejas (entre el 30 y el 40% de la población) se encargan de pecorear (recolectar los alimentos de las flores). Las restantes trabajan dentro de la colmena, en su mayoría alimentando a las crías. En invierno, salvo días excepcionalmente cálidos, no salen a recolectar. Tampoco tienen crías para alimentar. Ya que la abeja reina es la única hembra que queda fecundada, es la única madre de las abejas obreras (hembras con órganos sexuales atrofiados, por lo que no pueden ser fecundas) y de otras reinas, criadas para reemplazarla. Los zánganos nacen de huevos no fecundados de reina (partenogénesis, que significa “nacido de virgen”). Algunas veces, por ausencia de reina e imposibilidad de criar una nueva reina en reemplazo, algunas obreras también ponen huevos no fecundados de zánganos. Estos no fecundan a la reina de la colmena, alguno quizás fecunde a una reina de otra colmena, pero morirá cuando lo haga (IICA, 2004).

Clasificación Taxonómica

Tipo: Artrópodos

Clase: Insectos

Orden: Himenópteros

Familia; Apidae

Género: *Apis*

Especia: *Apis mellifera*

Estructura social de la colmena

Dentro de la colonia se observan tres categorías de individuos, además, la colonia alberga en diferentes estados de desarrollo huevos, larvas y pupas.

- **Reina**

La reina es la única hembra capacitada para la reproducción de la especie; la cual pone de 120.000 a 200.000 huevos por año. Al igual que la obrera, se origina a partir de un huevo fecundado. La diferencia en su desarrollo se debe en forma exclusiva a su alimentación durante todo el periodo larval con jalea real. Su tarea es la postura de huevos, no hace otra cosa. Salvo en los enjambres recién formados, ella es la madre de toda la población en la colmena (Rodríguez, 1999).

Una reina vive de 3 a 6 años; sin embargo, en la colonia debe renovarse de reina cada año, y máximo a los dos años, para que la colonia se mantenga vigorosa y con buen rendimiento. Desde el nacimiento hasta la entrada en celo pasan de 5 a 10 días, durante los cuales, la reina elimina con ayuda de las obreras las realeras existentes. Si naciesen 2 reinas a la vez, una pelea a muerte decidiría quien es la responsable de la colonia. Entre el décimo y vigésimo día de vida, la reina saldrá de la colmena a realizar vuelos de orientación y los vuelos de apareamiento. Se aparea con varios zánganos hasta que su espermateca (bolsa en la que almacena el esperma durante toda su vida) quede completa. Si el tiempo es desfavorable mientras que la reina está en celo y esta no puede salir a fecundarse, ya no lo hará nunca quedando zanganera y siendo necesario sustituirla. A los pocos días (2-5) del apareamiento comienza la puesta (500-2000 huevos diarios en buenas condiciones) que dependerá de varios factores (edad de la reina, cantidad de abejas existentes en la colmena, entrada de néctar, espacio disponible).

Su aspecto es bastante diferente al de las obreras: es de cuerpo más alargado, y generalmente, aun cuando no siempre es de color más claro. Esta no “pica” al hombre pues su aguijón lo emplea solamente en sus combates mortales contra otra reina rival que pudiera encontrar en la colmena (Rudín 1940).

La reina también se encarga de mantener a la colonia “unida”, sus glándulas mandibulares producen una sustancia (feromona) que recogen las obreras y distribuyen por toda la colmena permitiéndoles saber que la reina está presente. Esta feromona, mantiene unida la colonia, evita la construcción de realeras e incluso evita que las obreras se vuelvan ponedoras. La secreción de esta glándula decrece al hacerse vieja la reina, también, cuando en la colmena existe una gran población la concentración de esta sustancia por abeja disminuye (Aguilera, 2013).

- **Obreras**

Las abejas obreras son también abejas hembras, pero impropias para la reproducción por tener los ovarios atrofiados. Ellas son las que trabajan y desempeñan todos los quehaceres de la colmena: construyen los panales, alimentan las larvas, limpian las habitaciones, las defienden contra intrusos y enemigos y salen al campo a recolectar el polen y la miel que almacenan en los panales (Rudín 1940).

La vida de una obrera tiene una duración variable dependiendo de la época del año en la que nazca, es así como las nacidas al final del verano están destinadas a pasar el invierno en la colmena llegan a vivir de 6 a 8 meses mientras que las que nacen al final de la primavera y pasan todo el verán en labores de recolección viven solo de 6 a 8 semanas. Respecto de lo anterior se estima como tiempo de vida media en las abejas obreras un periodo de 35 días (Aguilera, 2013).

Las obreras tienen varias características específicas; su tamaño es más pequeño que el de los demás componentes de la colmena y su abdomen también es más corto. Además, poseen un aparato bucal muy desarrollado con una lengua muy larga que les permite obtener el néctar que almacenan en el buche (bolsa en el estómago) para transportarlo a la colmena. Tienen una visión muy desarrollada ya que la necesitan

para la recolección, localización, etc. En las patas posteriores, poseen una modificación denominada cestillo que les permite transportar el polen y el propóleo (resina de las plantas). Poseen un cepillo de pelos donde quedan recogidos los granos de polen, cuando este cepillo está lleno, pasan el polen a los cestillos y lo transportan a la colmena. Una característica muy importante de las obreras es que son la única casta de la colmena que poseen en su abdomen 4 pares de glándulas cereras, estas, son las encargadas de producir la cera que se utilizara en la elaboración y arreglo de las celdillas de los panales. En su abdomen, también poseen glándulas de Nassanoff (en la parte posterior del séptimo terguito del abdomen formando una banda) encargadas de producir el olor característico de la colonia. Se puede ver a las abejas en la piquera con la glándula de Nassanoff abierta. Gracias a esta, las abejas de una misma colonia se reconocen entre sí (Aguilera, 2013).

El ovopositor atrofiado se ha convertido en un aguijón que utilizan como aparato defensivo. Este tiene forma arponeada por lo que, tras clavarlo, y a no ser que pique en un cuerpo adiposo como por ejemplo el de otra abeja, la obrera muere ya que, debido a su forma, el aguijón queda atrapado y desgarrar parte del abdomen de la obrera. Al final del aguijón se puede ver una bolsita blanquecina, llamada técnicamente vesícula de veneno. De acuerdo a su edad tiene que cumplir diferentes tareas, de acuerdo a las cuales reciben los siguientes nombres:

- **Limpiadoras:** durante los primeros 3 días de su vida tienen que asear las celdas vacías para que la reina puedan poner huevos.
- **Nodrizas:** los próximos 6 días son nodrizas y tienen que alimentar las crías, es decir, a las larvas que nacen de los huevos.
- **Constructoras:** durante 5 días trabajan construyendo panales y celdas de cera, producida por ellas mismas en unas glándulas especiales de su cuerpo.
- **Almacenadoras** después, las obreras se encargan de recibir y almacenar el néctar que recolectan las pecoreadoras, engorgándolo y transformándolo así en miel.

- **Guardianes** realizan esta labor por 2 o 3 días, cuidando la piquera de la colmena para evitar la entrada de los enemigos de las abejas.
- **Pecoreadoras** las últimas 3 semanas salen para recolectar néctar, polen y agua, hasta cuando mueren.

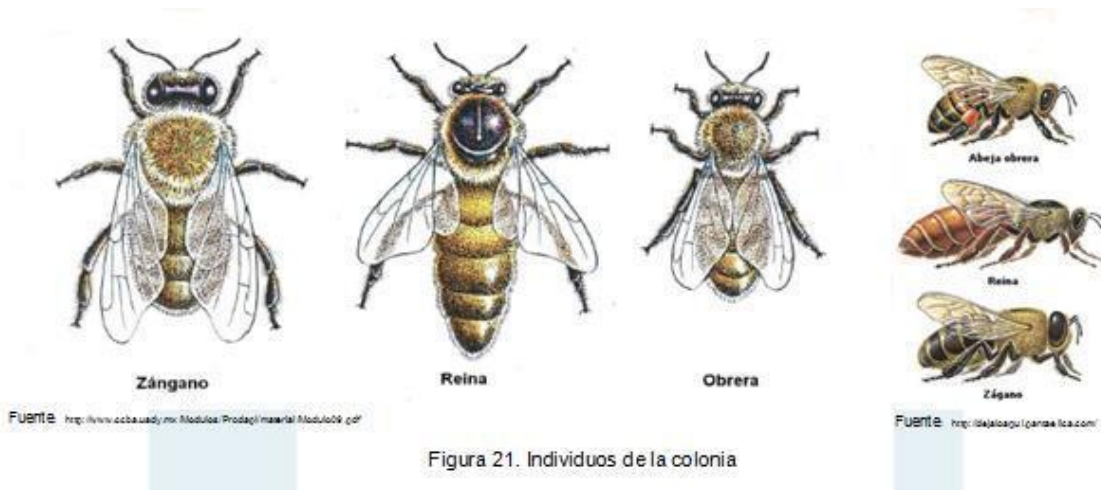
(Aguilera, 2013)

- **Zánganos**

Los zánganos son los machos de la especie. Poseen mayor corpulencia que las obreras y carecen de aguijón para su defensa (Rudín 1940).

Son los machos de la colonia, que tienen como principal función fecundar a las reinas, siendo la época del año y las condiciones climáticas determinantes para su aparición. Están presentes en la colmena desde la primavera hasta el otoño, generalmente el tiempo en que existen reinas sin fecundar. Cuando el flujo de néctar cesa, el alimento escasea, por lo que no hay necesidad de fecundar nuevas reinas, los machos son expulsados de la colmena muriendo de frío y hambre en el exterior de la misma, el tiempo de vida promedio de un zángano fluctúa entre los 3 y 4 meses (Aguilera, 2013).

Figura No.10: Organización de la colmena

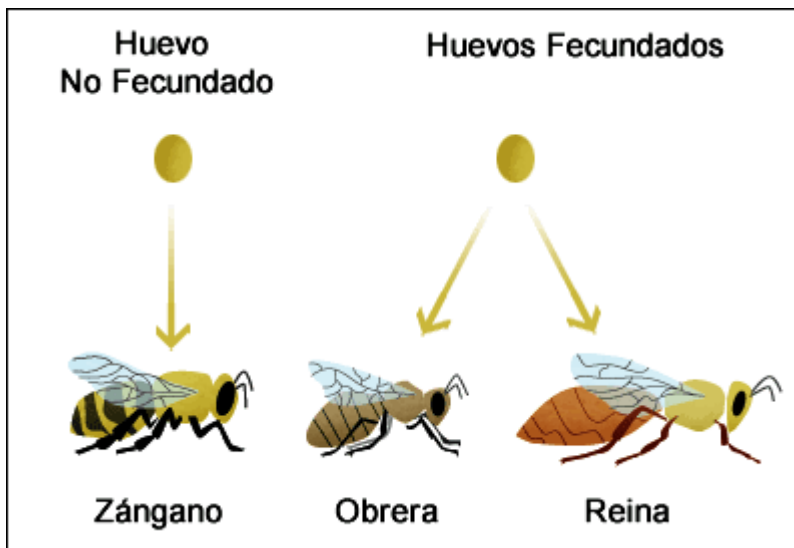


Reproducción

La cría controlada de abejas reinas es una herramienta fundamental, asegurando la ascendencia y el control de estirpes. La colonia de abejas se encuentra constituida por tres castas, estando la proporción de estas determinadas por causas genéticas y ambientales.

Durante los vuelos nupciales la abeja reina será fecundada por varios zánganos, creando un reservorio de espermatozoides en su espermateca, que será empleado a lo largo de varios años que puede durar su vida útil. La puesta de huevos fecundados o no depende de la voluntad de la reina, encontrándose la misma completamente determinada por las condiciones ambientales y de la colonia. De un huevo no fecundado (n cromosomas) nacerá un macho (zángano), mientras que de un huevo fecundado ($2n$ cromosomas) nacerá una hembra. La casta a que pertenecerá esta hembra: reina u obrera, se encuentra por completo determinada por la alimentación recibida a lo largo de los seis días que dura su vida larvaria, recibiendo la primera, durante todo el periodo, una secreción producida por las obreras más jóvenes (nodrizas) conocida como jalea real, mientras que la larva de obrera únicamente es alimentada con jalea real durante los tres primeros, complementando la alimentación con miel y polen los tres últimos. Esto permite, que una larva destinada a ser obrera, modificando su alimentación, pueda ser reconducida dando lugar a una reina. No obstante, cuanto más próximo al tercer día se produzca el cambio, peores serán los resultados. Secundariamente, la celdilla donde es criada una reina sufre profundas modificaciones, tomando una disposición vertical y alcanzando un tamaño considerablemente superior al de las obreras. Igualmente se ve afectado el periodo de desarrollo, pasando de un promedio de 21 días para las obreras a 16 para las reinas (Curtis, 2008).

Figura No.11: Reproducción abejas



Habitualmente una colonia de abejas puede criar nuevas reinas por tres motivos: la reina es vieja y sus recursos se están agotando, quiere formar un enjambre o se produce la muerte súbita de la reina anterior. En los dos primeros casos, la crianza de nuevas reinas se encuentra determinada desde el principio, siendo las larvas elegidas para este fin y criadas como futuras reinas desde su eclosión. Cuando la causa es la muerte inesperada de la reina anterior, la colonia queda huérfana, y la necesidad imperiosa de reemplazarla activa el mecanismo para criar nuevas reinas, para lo que recurre a larvas de todas las edades, hasta tres días que aún son alimentadas con jalea real. En este último caso, la calidad de la reina debe ser superior cuanto menor edad tuvieron al ser seleccionadas (Flores, 1998).

Longevidad de las abejas

Tipo de abeja	Longevidad
Reinas	Viven menos de 5 años
Obreras	<ul style="list-style-type: none"> - Las nacidas en la primavera y al comienzo del verano son las más longevas, pueden llegar a vivir de 4 a 5 semanas. - Las nacidas al fin del verano u otoño sobreviven el invierno y viven entre 6 y 7 meses.

Zánganos	<ul style="list-style-type: none"> - En primavera o verano, viven entre 22 y 50 días. - En otoño son expulsados por las obreras para que se mueran pronto fuera de la colmena.
-----------------	--

En las abejas, la altamente evolucionada división del trabajo supone la realización de numerosas funciones, que cambian con la edad, entre ellas la digestión. Las obreras en edad de atender a la cría consumen la mayor parte del polen acarreado a la colonia por las pecoreadoras, elaborando la jalea proteica (alimento de la cría) en sus glándulas especializadas. Esta es distribuida a la cría, a otras obreras, a los zánganos y a la reina.

Anatomía Interna

- **Sistema circulatorio**

La sangre (hemolinfa) ubicado dentro de la cavidad del cuerpo (hemocele) circula libre. Dorsalmente un corazón mueve el líquido (celdas con varias funciones) de atrás hacia adelante con contracción. El aparato circulatorio es abierto, con un vaso dorsal largo y delgado que recorre todo el cuerpo del animal; la parte torácica recibe el nombre de aorta y la abdominal el de corazón. En la zona de los segmentos abdominales II a IV, los costados del vaso están perforados por cinco aberturas que reciben el nombre de ostias u ostiolos, por los que la hemolinfa penetra en el vaso; el corazón empuja la sangre en dirección cefálica, mediante pulsaciones rítmicas de las paredes musculares (Padilla, 2003).

Principalmente el líquido sirve de transporte y almacenamiento de nutrientes y hormonas, recoge las sustancias tóxicas mientras las celdas defienden al cuerpo de infecciones y ataque de parásitos y favorecen a cicatrización de heridas. La sangre no circula oxígeno entonces no tiene glóbulos rojos – el color del líquido de la sangre es el de la comida (Padilla, 2003).

- **Sistema nervioso**

Las abejas tienen un cerebro (de tres partes) en la cabeza y extendiendo detrás una cadena ganglionar en posición vertical para controlar el funcionamiento de todos los órganos, recibir, procesar y emitir respuestas a varios tipos de estímulos que

recibe de numerosos órganos sensoriales como los ojos (visión), el oído, olfato y tacto (antena y pelo) y el gusto (palpos de maxila y labio) (Food 4 Farmers, 2010).

- **Sistema respiratorio (Sistema tráqueas)**

El intercambio de oxígeno desde afuera y la eliminación del anhídrido carbónico, producido durante la generación de energía, se efectúa a través de unos tubos semi-rígidos y permite que los gases se muevan dentro las tráqueas y las ramas más finas las traqueolas. El aire entra y sale a través de los espiráculos (Food 4 Farmers, 2010).

Los órganos de la respiración en las abejas son las tráqueas. Las tráqueas se comunican con el exterior por medio de unas aberturas llamadas estigmas situadas en diferentes puntos del tórax y el abdomen. Los túbulos traqueales convergen en las dos grandes tráqueas llamadas también sacos aéreos, los cuales se encuentran comunicados entre sí. De éstas parten otras tráqueas que se subdividen en traqueolas para llevar el oxígeno a los tejidos. Los sacos aéreos son bastante voluminosos y de ellos se dividen los 6 pares de estomas abdominales. Existen 2 pares de estigmas en el tórax y 6 en el abdomen. El primer par se encuentra en el Protórax y el segundo en la unión del mesotórax con el metatórax. Los estigmas abdominales funcionan como inhaladores de oxígeno, mismo que pasa a los sacos aéreos y se distribuyen por todo el organismo. Las tráqueas del tórax llevan el anhídrido carbónico al exterior; en breves palabras, la inspiración se efectúa por los poros abdominales y por los torácicos la expiración (Saldivar, 1979).

ENZIMAS

Clasificación de las enzimas

En la actualidad cada enzima se clasifica y se nombra según la clase de reacción que cataliza. En este esquema, a cada enzima se le asigna una clasificación de cuatro números y un nombre con dos partes denominado nombre sistemático. Las seis categorías principales de enzimas son las siguientes:

1. **Oxidoreductasas:** Catalizan reacciones redox en las cuales cambia el estado de oxidación de uno o de más átomos en una molécula. La oxidación-reducción en sistemas biológicos implica una o dos reacciones de transferencia de

electrones acompañadas del cambio compensatorio de la cantidad de hidrógeno y de oxígeno en la molécula (Molina, 2008).

2. Transferasas: Transfieren grupos moleculares de una molécula donadora a una aceptora. Entre tales grupos están el amino, carboxilo, carbonilo, metilo, fosforilo y el acilo ($RC = O$). Los nombres triviales comunes de las transferasas a menudo incluyen el prefijo trans: son ejemplos las transcarboxilasas, las transmetilasas y las transaminasas (Molina, 2008).

3. Hidrolasas: Catalizan reacciones en las que se produce la rotura de enlaces como C-O, C-N y O-P por la adición de agua. Entre las hidrolasas están las estererasas, las fosfatasas y las peptidasas (Molina, 2008).

4. Liasas: Catalizan reacciones en las que se eliminan grupos (p. ej., H_2O , CO_2 y NH_3) para formar un doble enlace o se añaden a un doble enlace. Son ejemplos de liasas las descarboxilasas, las hidratasas, las deshidratasas, las desaminasas y las sintetetasas (Molina, 2008).

5. Isomerasas: Se trata de un grupo heterogéneo de enzimas. Las isomerasas catalizan varios tipos de reordenamientos intramoleculares. Las epimerasas catalizan la inversión de átomos de carbono asimétricos y las mutasas catalizan la transferencia intramolecular de grupos funcionales (Molina, 2008).

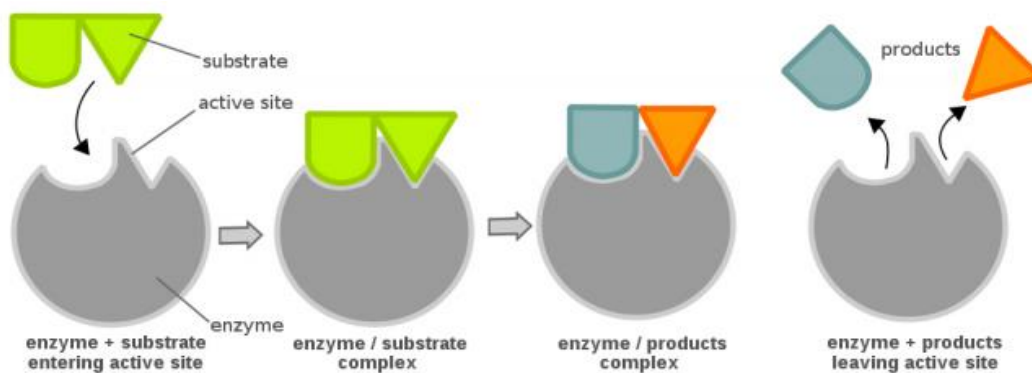
6. Ligasas: Catalizan la formación de enlaces entre dos moléculas de sustrato. Por ejemplo, la ligasa de DNA une entre sí fragmentos de cadenas de DNA. Los nombres de muchas ligasas incluyen el término sintetetasas. Varias otras ligasas se denominan carboxilasas (Molina, 2008).

Estructura

Los enzimas, al igual que las proteínas, presentan todos los rasgos estructurales y propiedades químicas que caracterizan a esta notable clase de biomoléculas. En efecto, se ha podido comprobar que los enzimas pierden su actividad catalítica cuando sufren desnaturalización por efecto de los mismos agentes que afectan a las demás proteínas; la conformación tridimensional nativa intacta de

la proteína enzimática resulta indispensable para que ésta desempeñe su función. Además, los enzimas, al igual que otras muchas clases de proteínas, presentan un centro activo a través del cual interactúan con la(s) molécula(s) de ligando, que en este caso recibe (n) el nombre de sustrato (s), mediante un acoplamiento espacial (las superficies moleculares de ambos tienen formas complementarias) y químico (grupos funcionales complementarios del enzima y el (los) sustrato (s) establecen diferentes tipos de interacciones débiles entre sí). Tanto la actividad catalítica como el elevado grado de especificidad química que presentan los enzimas residen en esta interacción específica entre el enzima y su sustrato (Koolman, 2005).

Figura No. 12: Unión de la enzima con el sustrato



Fuente: Pérez, 2006

Especificidad de las enzimas

Los enzimas, además de ser unos catalizadores muy eficaces, presentan un alto grado de especificidad química, es decir, son capaces de inducir la transformación de un sólo tipo de moléculas y no de otros que también se encuentran presentes en el medio de reacción. Un enzima es capaz de discriminar entre dos sustancias que potencialmente podrían actuar como sustratos. La relación que existe entre el enzima y su sustrato es un caso particular de un fenómeno más amplio: la relación entre las proteínas y sus respectivos ligandos (Anónimo, 2009).

Entre el enzima y su sustrato se da un acoplamiento espacial (el sustrato "encaja" en el centro activo del enzima) y químico (ambos poseen grupos funcionales que pueden

establecer interacciones débiles entre sí). La especificidad de los enzimas reside en esta complementariedad estructural. Así, aquellos potenciales sustratos que, por falta de acoplamiento espacial y/o químico, no puedan acceder al centro activo del enzima, no podrán ser transformados por él. Por otra parte, es necesario tener en cuenta que, en muchos casos, no es la totalidad de la molécula de sustrato, sino solamente una parte de ella, denominada grupo determinante de la posición, la que se acopla espacial y químicamente con el centro activo (Anónimo, 2009).

- **Inhibidores**

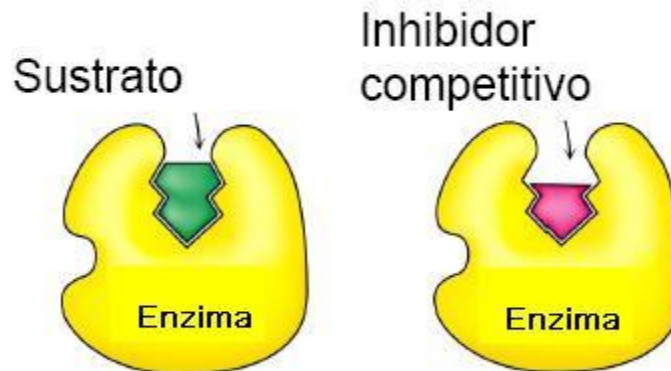
Determinadas sustancias van a poder actuar sobre las enzimas disminuyendo o impidiendo su actuación. Estas sustancias son los inhibidores. Se trata de moléculas que se unen a la enzima impidiendo que ésta actúe sobre el sustrato (Vera, 2007).

La inhibición puede ser irreversible, cuando el inhibidor, llamado en este caso veneno metabólico, se une covalentemente al enzima, alterando su estructura e inutilizándola de forma permanente (los insecticidas organofosforados inhiben la acetilcolinesterasa, o el cianuro a la citocromo oxidasa). La inhibición reversible, más común, tiene lugar cuando la enzima vuelve a tener actividad una vez eliminada la sustancia inhibidora. En este caso, la unión del inhibidor con el enzima se realiza por enlaces no covalentes, más fáciles de romper. Existen dos tipos de inhibición reversible:

- **Competitiva:**

El inhibidor se une al centro activo impidiendo la unión del sustrato. Existe una competencia entre ambos para ocupar el centro activo. El grado de inhibición dependerá de la proporción relativa entre sustrato e inhibidor. El inhibidor debe ser análogo (parecido) al sustrato para poder unirse al centro activo. Su acción se anula al aumentar la concentración de sustrato (Vera, 2007).

Figura No.13: Inhibición competitiva

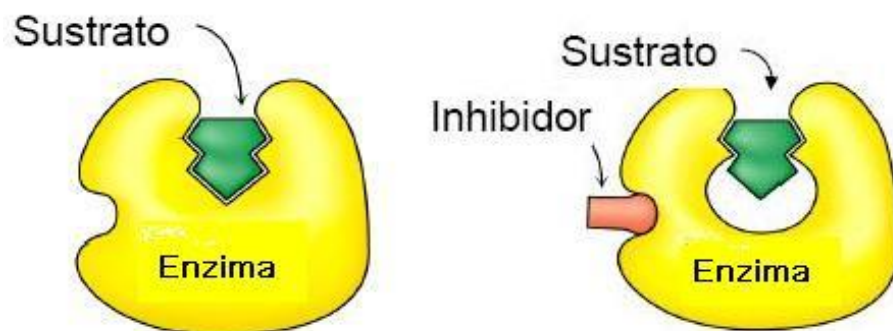


Fuente: Donoso, 2006

○ **No competitiva:**

Cuando el inhibidor se une reversiblemente a un punto diferente del centro activo, pero con su actuación modifica la estructura del enzima al tiempo que dificulta el acoplamiento del sustrato. En otras ocasiones, el inhibidor se une al complejo enzima-sustrato, una vez creado éste, e impide la posterior formación del producto. Este tipo de inhibición no depende de la concentración de sustrato (Vera, 2007).

Figura No.14: Inhibición no competitiva



Fuente: Donoso, 2006

Definición

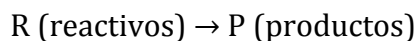
Las enzimas son el grupo más variado y especializado de las proteínas. Son biomoléculas especializadas en la catálisis de las reacciones químicas. Son muy eficaces como catalizadores ya que son capaces de aumentar la velocidad de las reacciones químicas mucho más que cualquier catalizador artificial conocido, y además son altamente específicos ya que cada uno de ellos induce la transformación de un sólo tipo de sustancia y no de otras que se puedan encontrar en el medio de reacción. Para cumplir su función requieren conservar su estructura nativa, en particular se destaca una región conocida como sitio activo, que es responsable de catalizar la reacción.

Actividad Enzimática

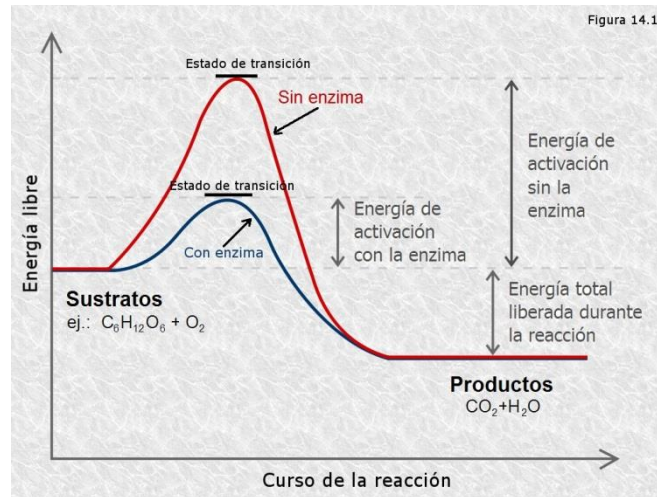
La acción catalítica de una enzima, o sea su actividad, se mide cuantificando el incremento de la velocidad de la reacción en condiciones perfectamente definidas, es decir midiendo la diferencia del recambio entre la reacción catalizada y la reacción no catalizada en un tiempo determinado. Normalmente las velocidades de reacción se expresan como cambios de concentración por unidad de tiempo. Como la actividad catalítica es independiente del volumen, la actividad enzimática se expresa indicando el recambio por unidad de tiempo (Koolman, 2005).

Estado de transición

La teoría cinética química establece que las reacciones químicas transcurren molécula a molécula de modo que una reacción tal como



tiene lugar porque una determinada fracción de la población de moléculas R, en un instante dado, posee energía suficiente como para alcanzar un estado activado llamado estado de transición, en el que es muy fácil que se rompan o se formen uno o más enlaces químicos para formar los productos P.

Figura No.5: Estado de transición

Catalizadores

Un catalizador, por definición, es un compuesto que con su sola presencia aumenta la velocidad de la reacción sin experimentar ninguna modificación. Las enzimas son capaces de acelerar reacciones químicas específicas en un medio acuoso, y en condiciones en las que los catalizadores no biológicos, serían incapaces de realizar iguales funciones. Su capacidad catalizadora depende de su conformación, la supresión de alguno de sus niveles de estructuración, causa la pérdida de funcionamiento. Gran parte de sus propiedades catalíticas radica en el alto grado de especialización que presentan respecto a las sustancias reaccionantes o sustratos. Un catalizador permite (Pérez, 2006).

Mecanismo de acción

La característica peculiar que diferencia las enzimas del resto de las proteínas es que inducen modificaciones químicas en los sustratos a los que se unen, ya sea por rotura, formación o redistribución de sus enlaces covalentes, ya por introducción o pérdida de algún grupo funcional (Molina, 2008).

Una reacción química en la que, a partir de unas moléculas se obtiene unos productos diferentes, siempre implica una redistribución de enlaces. La

organización de los átomos que componen los reactivos es distinta de la de los productos y en las moléculas, los átomos se unen entre sí mediante enlaces. Cuando, por ejemplo, representamos una reacción como $A+B \rightarrow C+D$, estamos indicando implícitamente un balance de materia, es decir, que los átomos presentes en A y B se encuentran también en C y D, aunque, evidentemente, están distribuidos de forma diferente (Voet, 2006).

Al aumentar la temperatura, las moléculas que vibran (A y B) tienen mayor probabilidad de chocar. Una reacción química ocurre cuando las moléculas que chocan poseen una cantidad mínima de energía denominada energía de activación (E_0) o, con mayor frecuencia en bioquímica, energía libre de activación (ΔG^+). No todas las colisiones producen reacciones químicas, debido a que sólo una fracción de las moléculas posee la energía suficiente o la orientación correcta para reaccionar. Otra forma de elevar la probabilidad de las colisiones, y de este modo incrementar la formación de productos, es aumentar la temperatura de la reacción o la concentración de los reactivos. Una manera más consiste en proporcionar una superficie a la cual las moléculas de reactivo puedan unirse en orientaciones favorables. Sin embargo, elevar las temperaturas en los sistemas vivos para facilitar reacciones es poco realista, porque las altas temperaturas dañarían la integridad de las estructuras biomoleculares. Los seres vivos utilizan catalizadores proteínicos (enzimas) para evitar esta sujeción física de la energía cinética del sistema (Voet, 2006) (Ver Anexos).

Factores que influyen en la actividad enzimática

Las enzimas son proteínas que funcionan en un determinado medio, bien sea intra o extracelular, donde las condiciones pueden variar, y por lo tanto el nivel de actividad de la molécula puede verse modificado a lo largo del tiempo. Dentro de los factores que afectan a la actividad enzimática merecen destacarse:

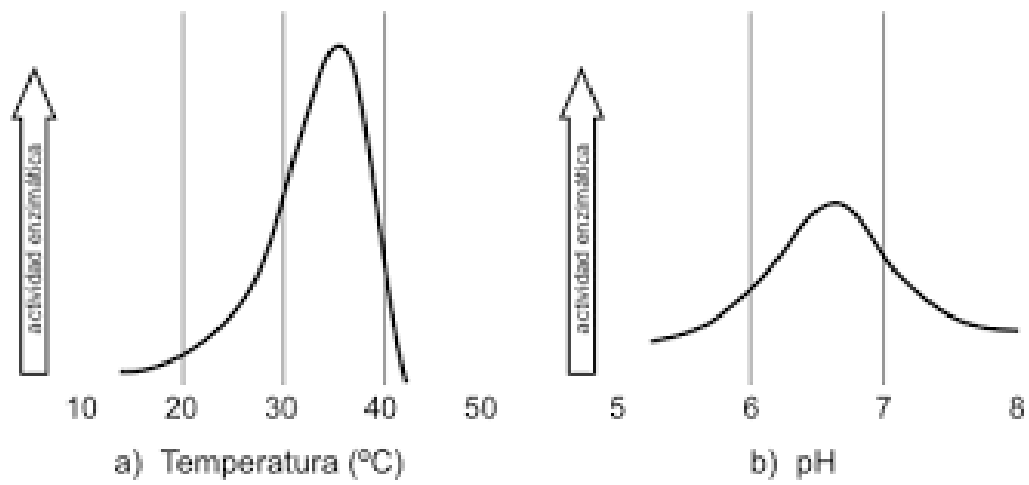
a. pH

Todas las enzimas tienen en su estructura primaria aminoácidos con grupos radicales ionizables. Dependiendo del pH del medio en el que se encuentren pueden no tener carga, o por el contrario estar cargados, bien positiva o negativamente. Estas cargas sirven para estabilizar la conformación natural de la proteína y cuando el pH las cambia, también se modifica la estructura, llevando en último extremo a la desnaturalización de la proteína, y en el caso de las enzimas a la pérdida de actividad. Dependiendo del medio dónde deba ejercer su acción catalítica, cada enzima tendrá su conformación más adecuada, y por lo tanto su máxima actividad, alrededor de un valor concreto de pH, que recibe el nombre de pH óptimo. El cambio, bien sea hacia valores más altos o más bajos provocará una disminución de la actividad (Peña, 2004).

b. Temperatura

Este factor presenta dos efectos contrapuestos, por un lado, el aumento de temperatura produce, de forma general, un aumento en la velocidad de cualquier reacción química; pero, por otro lado, las enzimas experimentan desnaturalización y pérdida de actividad al superar una determinada temperatura. En este caso resulta más difícil determinar como en el pH una temperatura óptima, y las curvas de actividad presentan un incremento inicial de actividad más pronunciado para posteriormente al irse desnaturalizando, decrecer la velocidad de reacción (Peña, 2004).

Figura No. 6: Efecto del pH y Temperatura en la actividad enzimática



ANEXO No.2: Procedimientos utilizados en la experimentación

Preparación de Jarabe:

- Pesar en un vaso de precipitado de 1 litro, previamente tarado, la sacarosa.
- Medir con una probeta el agua destilada y verterla sobre la sacarosa.
- Agitar primero con una varilla de vidrio y, una vez mezclado un poco, colocar el vaso sobre la placa calefactora y situar todo ello en un agitador hasta completa disolución.
- Filtrar al mismo tiempo en dos frascos topacio con objeto de que no se enfríe demasiado y la filtración sea lo más rápida posible.
- Agregar los perseverantes y agitar constantemente hasta total disolución.
- Tapar los frascos y conservar en frigorífico. Caducidad y conservación – Estabilidad: 30 días en nevera (2-8°C). – Conservación: en nevera (Llopis, 1985 & Atienza, 2002).

Viscosímetro de Brookfield

2. Nivelar el aparato, ayudándose de la burbuja. El apuntador debe estar en 0. Si al introducir la aguja en el material de prueba, la 5 aguja está por encima de 0, no tome esto en cuenta y continúe trabajando.
3. Seleccionar la aguja adecuada según la viscosidad del material de prueba y atornillarla en el pivote
4. Colocar el líquido de prueba en un cilindro de tamaño adecuado.
5. Bajar cuidadosamente el cabezal hasta que el material de prueba llegue a la muesca que se encuentra en la aguja.
6. Colocar el botón selector de velocidades en las rpm deseadas. Si va hacer varias pruebas, comience con la velocidad más baja. Busque en las tablas el factor.
7. Accionar el interruptor para que comience a girar la aguja. Dejar que gire varias veces y que apuntador se estabilice antes de hacer la lectura.
8. Parar el motor accionado a la vez el embrague para hacer la lectura.

9. Leer la lectura señalada por el apuntador y anotarla.
10. Esperar unos cinco minutos; cambiar la velocidad y repetir los mismos pasos 6, 7 y 8.
11. Seguir cinco minutos antes de volver a accionar el aparato.
12. Cambiar ahora por la siguiente aguja y repetir los mismos pasos de 6 a 10 (puede hacer lecturas, si lo desea, con todas las agujas). NOTA: Si al colocar una aguja, la lectura es de 0, la viscosidad es menor que la mínima obtenida con dicha aguja. Cambiarla por otra que dé menos fuerzas. Si la lectura es de 100 o el apuntador sale del dial, cambiar por la aguja siguiente. PRECAUCIONES: Nunca acueste el cabezal con una aguja cubierta de material de prueba insertada: el producto puede correr hacia el pivote y dañar el sistema.

No use el viscosímetro con materiales que desprendan vapores ya que estos pueden penetrar por la cavidad del pivote oxidándolo. No permita movimientos bruscos al subir o bajar el cabezal.

Cálculos: Multiplicar la lectura del dial por el factor correspondiente y anotar la viscosidad (n) en centipoise (cps) (Pérez, 2014).

Densidad Relativa:

Por medio de la balanza se realizan las siguientes pesadas:

1. Se pesa el picnómetro vacío, asegurándose que este bien limpio y seco. Obteniéndose m_1 .
2. Se pesa el picnómetro lleno de agua destilada. Obteniéndose m_2 .
3. Se pesa el picnómetro lleno del líquido problema. Obteniéndose m_3 . Cuando se habla de picnómetro lleno, quiere decir que esta enrasado adecuadamente.
4. Obtenga la masa del líquido mediante la ecuación: $m_l = m_3 - m_1$.
5. Obtenga la masa del agua destilada: $m_a = m_2 - m_1$.
6. Obtenga la densidad relativa del líquido buscado: $p_1 = m_l / m_a$.

7. Anote la temperatura del agua y considere la densidad del agua para esta temperatura: ρ_a .

8. Para obtener la densidad del líquido, multiplique la densidad relativa del líquido problema por la densidad del agua: $\rho_l = \rho_r * \rho_a$ (Valderrama, 2010).

Control Microbiológico:

Jarabes, Soluciones y Equivalentes:

a) Determinación del número de colonias por mililitro (UFC/ml):

- Colocar 1.0 ml de la muestra a analizar en 9 ml de medio líquido de enriquecimiento, tales como caldo de soja y tripticasa, caldo Columbia, Tioglicolato con indicador.
- Colocar además, 1.0 ml de la muestra en 50 ml de buffer fosfato estéril.
- Disolver por calentamiento 2 tubos de Red bile agar y agar base. Dejar enfriar evitando la coagulación del agar.
- Colocar 1.0 ml de la suspensión de la muestra y el buffer en sendos platos Petri estériles.
- Agregar a cada uno el contenido de cada tubo de agar líquido.
- Mezclar por rotación.
- Incubar a 35.5°C por 48 horas.
- Contar el número de colonias.

b) Identificación del microorganismo:

- Colocar una gota de la muestra a examinar en los siguientes medios de cultivo:
 - a) Agar sangre
 - b) McConkey agar
 - c) Agar dextrosa Sabouraud
 - d) Agar chocolate
2. Incubar los platos de agar sangre, agar chocolate y agar McConkey a 35.5°C por 48 horas.

3. Incubar el plato de Sabouraud Dextrosa agar por 15 días.

4. Si hay crecimiento de colonias, proceder a la identificación con los métodos rutinarios del laboratorio.

Nota: Es importante en el caso del análisis de Jarabes, la presencia de Levaduras, lo cual se explica por la alta concentración de azúcar de éste tipo de productos. Especial cuidado hay que reservar para la posible contaminación con *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella sp* y *E. coli* (U.S Pharmacopeia, 2003).

Escalas hedónicas verbales:

Estas escalas son las que presentan a los jueces una descripción verbal de la sensación que les produce la muestra. Deben contener siempre un número non (impar) de puntos, y se debe incluir siempre el punto central <ni me gusta ni me disgusta >. A este punto se le asignará generalmente la calificación de cero. A los puntos de la escala por encima de este valor se les otorgan valores numéricos positivos, indicando que las muestras son agradables; en cambio, a los puntos por debajo del valor de indiferencia se les asigna valores negativos, correspondiendo a calificaciones de disgusto. Las muestras se presentan en recipientes idénticos, para no alterar la precepción de los jueces. Se aplica la prueba afectiva utilizando una escala hedónica vertical de 9 puntos (ver formato). Los jueces marcan con una X el punto más apropiado para cada caso, evaluando así la aceptabilidad general de cada producto. El análisis estadístico se realiza por medio de estadística descriptiva.

FICHA DE EVALUACIÓN

Edad:

Fecha:

Producto:

Instrucciones:

Pruebe el producto que se le presenta a continuación.

Por favor marque con una X el cuadrado que esta junto a la frase que mejor describa su opinión sobre el producto que acaba de probar.

<input type="checkbox"/>	Me gusta muchísimo
<input type="checkbox"/>	Me gusta mucho
<input type="checkbox"/>	Me gusta moderadamente
<input type="checkbox"/>	Me gusta ligeramente
<input type="checkbox"/>	Ni me gusta ni me disgusta
<input type="checkbox"/>	Me disgusta ligeramente
<input type="checkbox"/>	Me disgusta moderadamente
<input type="checkbox"/>	Me disgusta mucho
<input type="checkbox"/>	Me disgusta muchísimo

COMENTARIOS:

¡MUCHAS GRACIAS!

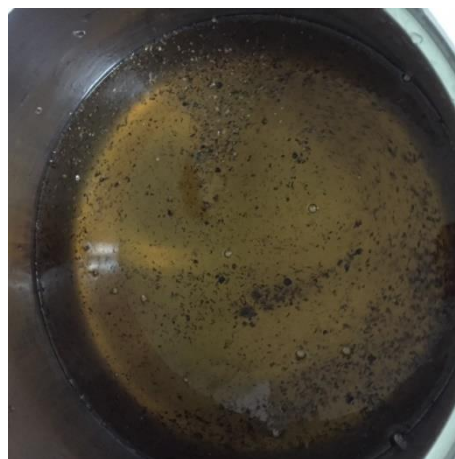
ANEXO 3: Imágenes del Procedimiento de Formulación del Jarabe a base de Sacarosa y prueba cualitativa de Felingh

Fotografías del proceso de preparación del Jarabe de Azúcar



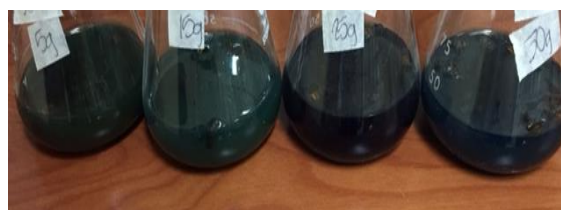
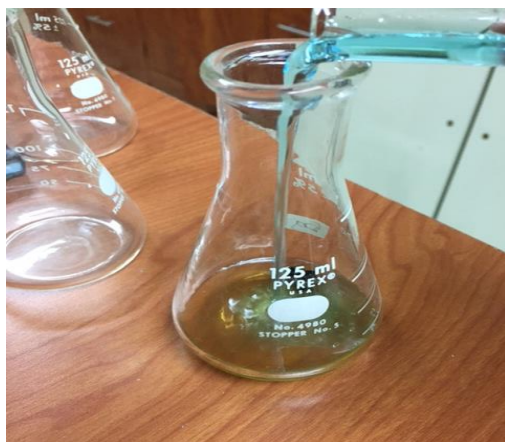
FUENTE: Datos experimentales.

Fotografías del proceso de agregación de las abejas



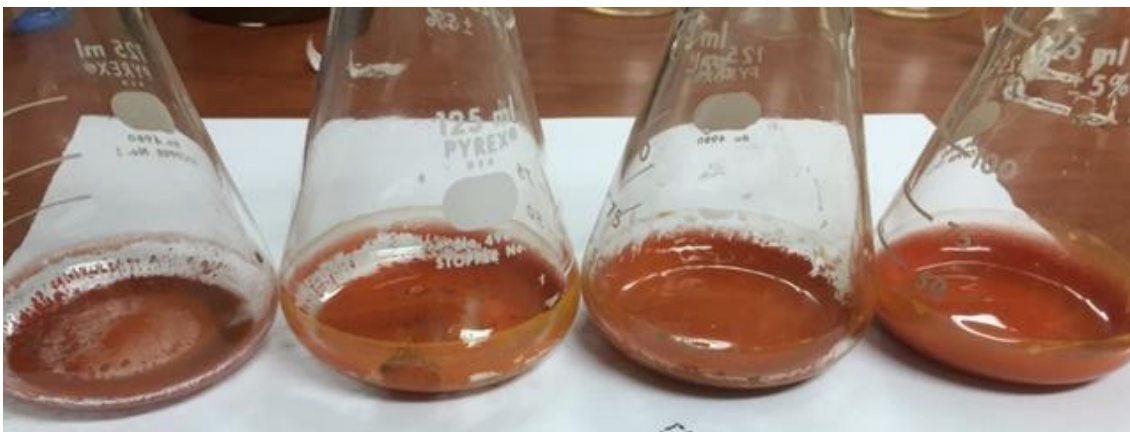
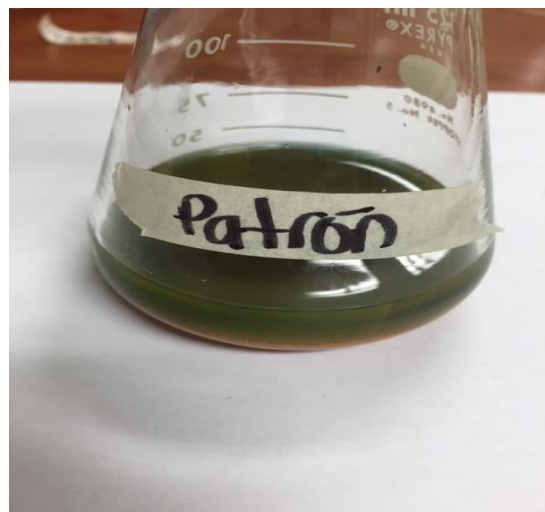
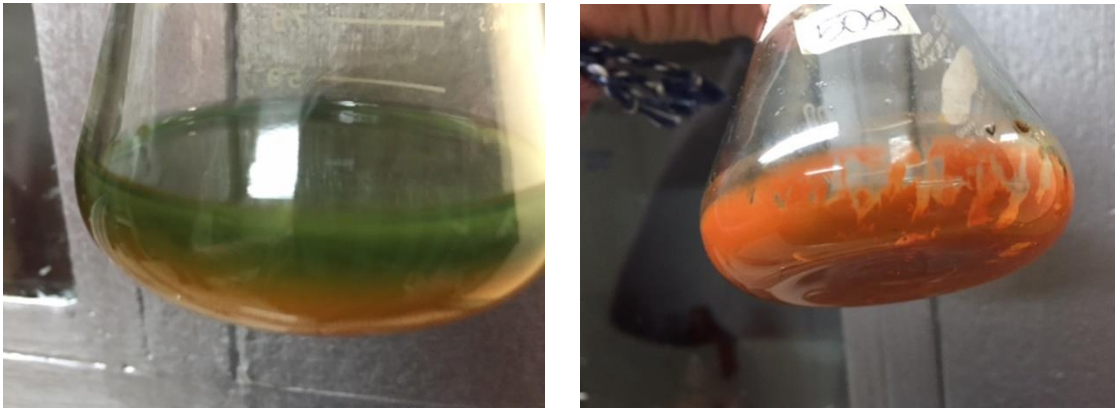
FUENTE: Datos experimentales.

Fotografías de la prueba cualitativa de Fehling



FUENTE: Datos experimentales.

Fotografías de los resultados de la prueba cualitativa de Felingh



FUENTE: Datos experimentales.

ANEXO 4: Resultados de los análisis cuantitativos por el método de HPLC

Fotografías de los datos de la Curva de Calibración de Glicerina del HPLC

```

METHOD C:\HPCHEM\2\METHODS\RETINOL.M
-----
                          Calibration Table
-----

Curva calibracion azucares

Calib. Data Modified   :      5/6/2016 1:54:37 PM

Calculate              :      External Standard
Based on               :      Peak Area

Rel. Reference Window :      5.000 %
Abs. Reference Window :      0.000 min
Rel. Non-ref. Window  :      5.000 %
Abs. Non-ref. Window  :      0.000 min
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
Uncalibrated Peaks    :      not reported
Partial Calibration   :      Yes, identified peaks are recalibrated
Correct All Ret. Times:      No, only for identified peaks

Curve Type             :      Linear
Origin                 :      Forced
Weight                 :      Equal

Recalibration Settings:
Average Response       :      Average all calibrations
Average Retention Time:      Floating Average New 75%

Calibration Report Options :
  Printout of recalibrations within a sequence:
    Calibration Table after Recalibration
    Normal Report after Recalibration
  If the sequence is done with bracketing:
    Results of first cycle (ending previous bracket)

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime  Lvl  Amount      Area      Amt/Area  Ref Grp Name
 [min] Sig [ug/ml]
-----|-----|-----|-----|-----|-----
  9.652  1  1  4.00000  1.38903e6  2.87970e-6      Sacarosa
                2  8.00000  2.36886e6  3.37715e-6
                3 12.00000  5.44819e6  2.20256e-6
 11.380  1  1  4.00000  4.15990e6  9.61561e-7      Glucosa
                2  8.00000  6.02127e6  1.32862e-6
                3 12.00000  1.46152e7  8.21064e-7
 17.284  1  1  4.00000  3.04913e6  1.31185e-6      Glicerina
                2  8.00000  4.55935e6  1.75464e-6
                3 12.00000  1.10180e7  1.08913e-6

More compound-specific settings:

Instrument 2 5/6/2016 1:58:21 PM AdEM

```

Fuente: Datos Experimentales obtenidos en el equipo HPLC de la Universidad del Valle de Guatemala.

Fotografías de la Curva de Calibración de Glicerina del HPLC

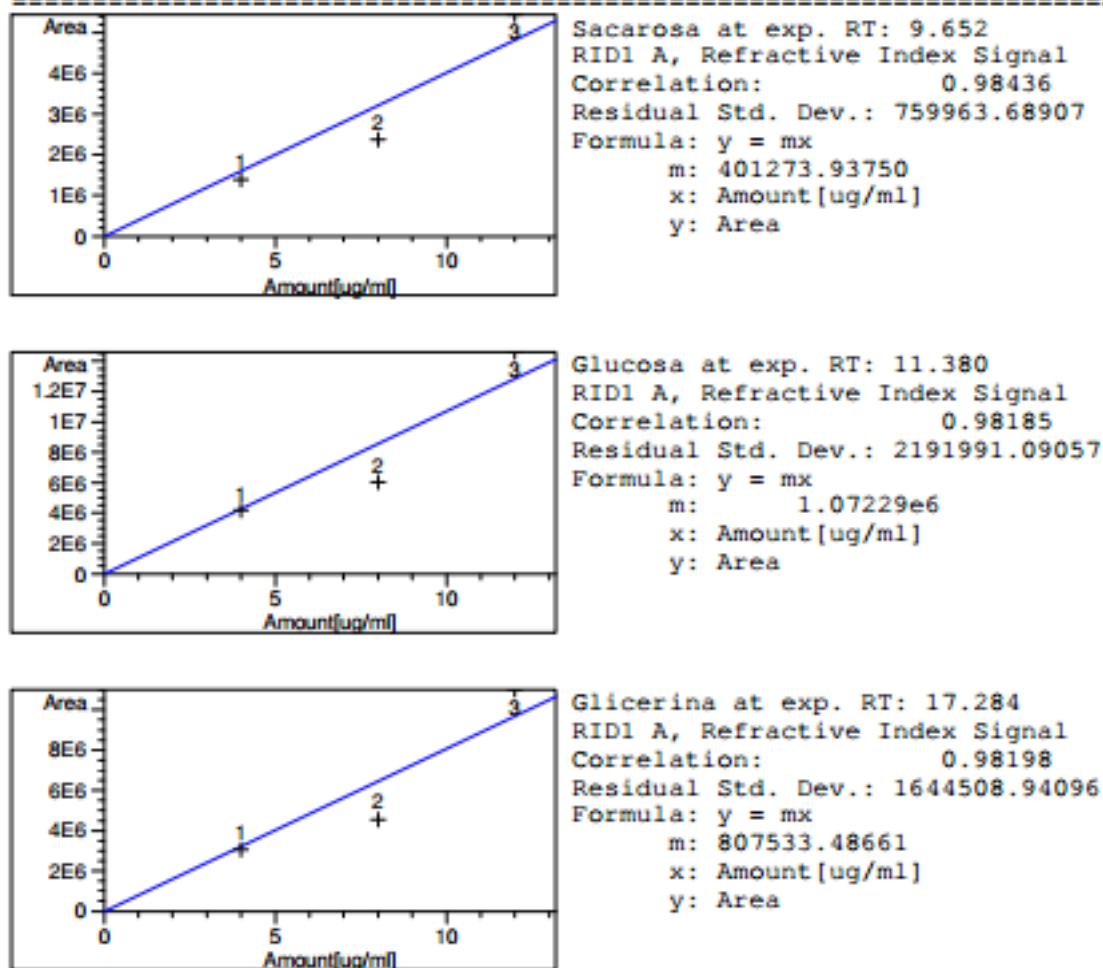
ethod C:\HPCHEM\2\METHODS\RETINOL.M

Compound: Glucosa
Time Window : From 11.099 min To 12.669 min

=====
Peak Sum Table
=====

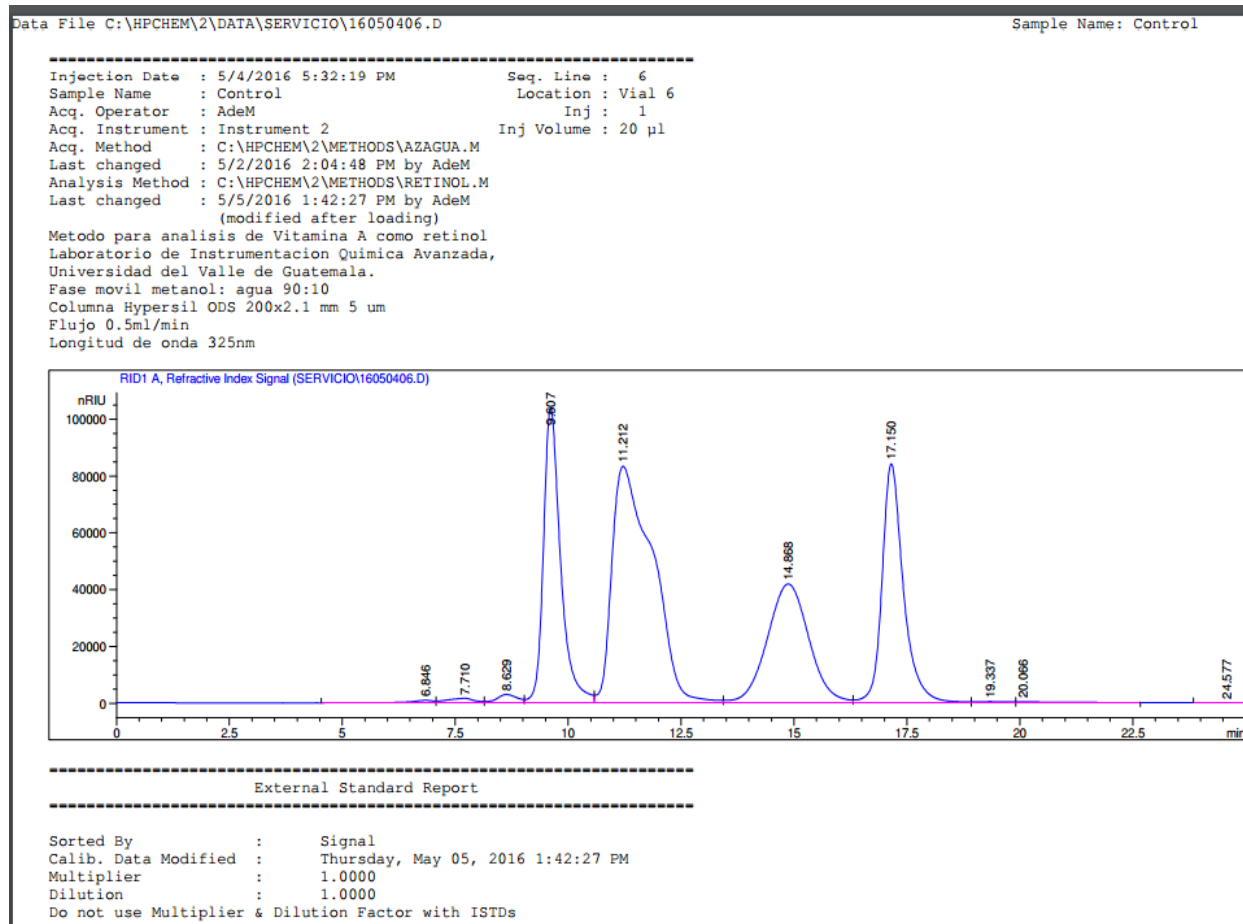
No Entries in table
=====

=====
Calibration Curves
=====



Fuente: Datos Experimentales obtenidos en el equipo HPLC de la Universidad del Valle de Guatemala.

Gráfica del HPLC en muestra control



Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [%]	Grp	Name
9.607	VV	2.74690e6	5.71216e-7	1.56907		Sacarosa
11.212	VV	5.20317e6	1.14616e-6	5.96368		Glucosa
14.868	VV	2.68059e6	1.32930e-6	3.56330		Fructosa

Totals : 11.09605

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Gráfica del HPLC en muestra de jarabe de sacarosa con 10g de abeja

10% Sac 10 g abeja

```

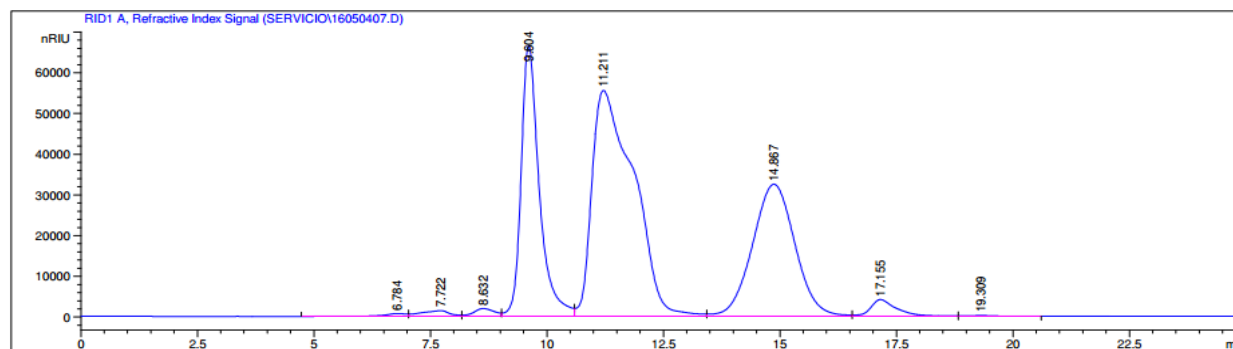
-----
Injection Date : 5/4/2016 5:59:42 PM      Seq. Line : 7
Sample Name    : Mu 1                      Location  : Vial 7
Acq. Operator  : AdeM                      Inj       : 1
Acq. Instrument : Instrument 2              Inj Volume: 20 µl
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZAGUA.M
Last changed   : 5/2/2016 2:04:48 PM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\RETINOL.M
Last changed   : 5/5/2016 1:42:27 PM by AdeM
                (modified after loading)

```

```

Metodo para analisis de Vitamina A como retinol
Laboratorio de Instrumentacion Quimica Avanzada,
Universidad del Valle de Guatemala.
Fase movil metanol: agua 90:10
Columna Hypersil ODS 200x2.1 mm 5 um
Flujo 0.5ml/min
Longitud de onda 325nm

```



External Standard Report

```

-----
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Thursday, May 05, 2016 1:42:27 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [%]	Grp	Name
9.604	VV	1.80573e6	5.71216e-7	1.03146		Sacarosa
11.211	VV	3.46600e6	1.14616e-6	3.97260		Glucosa
14.867	VV	2.05789e6	1.32930e-6	2.73555		Fructosa

Totals : 7.73961

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

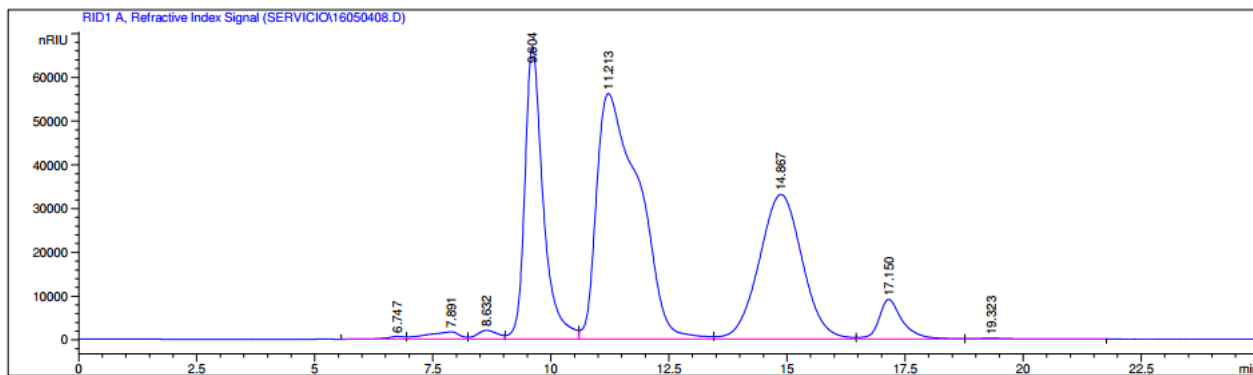
Gráfica del HPLC en muestra de jarabe de sacarosa con 25g de abeja

10 % sacarosa 25 g abeja

```

-----
Injection Date : 5/4/2016 6:26:57 PM      Seq. Line : 8
Sample Name    : Mu 2                      Location  : Vial 8
Acq. Operator  : AdeM                      Inj      : 1
Acq. Instrument : Instrument 2              Inj Volume : 20 µl
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZAGUA.M
Last changed   : 5/2/2016 2:04:48 PM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\RETINOL.M
Last changed   : 5/5/2016 1:42:27 PM by AdeM
                (modified after loading)
Metodo para analisis de Vitamina A como retinol
Laboratorio de Instrumentacion Quimica Avanzada,
Universidad del Valle de Guatemala.
Fase movil metanol: agua 90:10
Columna Hypersil ODS 200x2.1 mm 5 um
Flujo 0.5ml/min
Longitud de onda 325nm

```



External Standard Report

```

-----
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Thursday, May 05, 2016 1:42:27 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [%]	Grp	Name
9.604	VV	1.81373e6	5.71216e-7	1.03603		Sacarosa
11.213	VV	3.51478e6	1.14616e-6	4.02851		Glucosa
14.867	VV	2.10016e6	1.32930e-6	2.79173		Fructosa

Totals : 7.85628

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Gráfica del HPLC en muestra de jarabe de sacarosa con 50g de abeja

10 % Sacarosa 50 g abeja

```

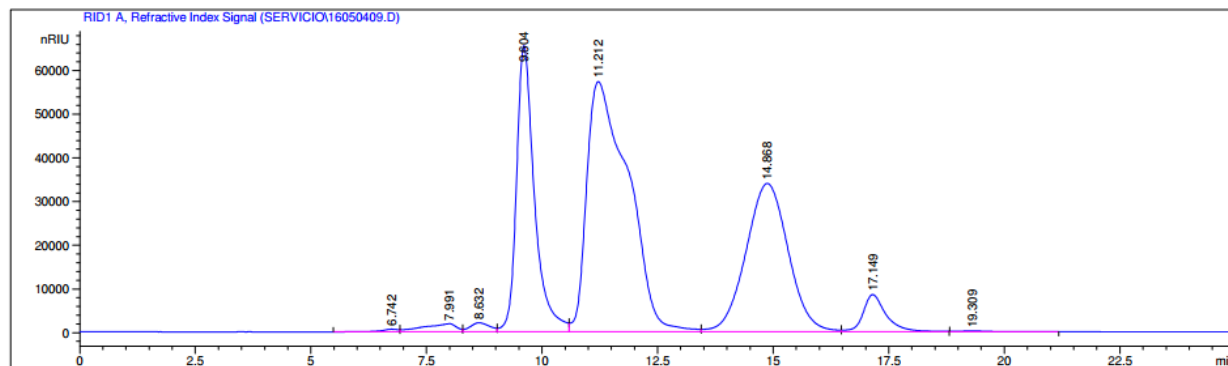
=====
Injection Date : 5/4/2016 6:54:15 PM      Seq. Line : 9
Sample Name    : Mu 3                      Location  : Vial 9
Acq. Operator  : AdeM                      Inj      : 1
Acq. Instrument: Instrument 2              Inj Volume: 20 µl
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\AZAGUA.M
Last changed   : 5/2/2016 2:04:48 PM by AdeM
Analysis Method: C:\HPCHEM\2\METHODS\RETINOL.M
Last changed   : 5/5/2016 1:42:27 PM by AdeM
                (modified after loading)

```

```

Metodo para analisis de Vitamina A como retinol
Laboratorio de Instrumentacion Quimica Avanzada,
Universidad del Valle de Guatemala.
Fase movil metanol: agua 90:10
Columna Hypersil ODS 200x2.1 mm 5 um
Flujo 0.5ml/min
Longitud de onda 325nm

```



External Standard Report

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : Thursday, May 05, 2016 1:42:27 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

```

Signal 1: RID1 A, Refractive Index Signal

RetTime [min]	Type	Area [nRIU*s]	Amt/Area	Amount [%]	Grp	Name
9.604	VV	1.77874e6	5.71216e-7	1.01605		Sacarosa
11.212	VV	3.58123e6	1.14616e-6	4.10468		Glucosa
14.868	VV	2.16220e6	1.32930e-6	2.87421		Fructosa

Totals : 7.99493

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

ANEXO 5: Productos Terminados

Fotografías del Jarabe de Acetaminofén



Fuente: Datos experimentales.

Fotografía de la Jalea de Naranja



Fuente: Datos experimentales.

Fotografía de la Crema Humectante



Fuente: Datos experimentales

ANEXO 6: Estabilidades Aceleradas de los Productos Terminados**ESTABILIDAD ACELERADA DEL ACETAMINOFEN:**

NOMBRE DEL PRODUCTO	Aceteminofen Solución Oral
EMPAQUE/ENVASE	Primario: Frasco gotero plástico.
CONTENIDO	30ml
No. DE LOTE	Piloto No.1
TEMPERATURA UTILIZADA	40 °C
HUMEDAD RELATIVA	75%

ANÁLISIS INICIAL (0 DÍAS)Análisis Físicos

Color	Rosado
Olor	Fresa
Sabor	Dulce-Amargo
pH a 25°C	4.95
Apariencia	Solución fluida, translúcida, sin precipitación.
Contacto con la tapa	Negativo

Análisis Microbiológico

Conteo Total Aeróbico a 37°C	Menor de 3
Coliformes Totales	Negativo
Hongos	Negativo
Levaduras	Negativo

Análisis Químico

Cada 1ml contiene: Acetaminofén	105.19mg/105.19%
------------------------------------	------------------

ANÁLISIS INICIAL (30 DÍAS)Análisis Físicos

Color	Rosado
Olor	Fresa
Sabor	Dulce-Amargo
pH a 25°C	4.96
Apariencia	Solución fluida, translúcida, sin precipitación.

Contacto con la tapa	Negativo
----------------------	----------

Análisis Microbiológico

Conteo Total Aeróbico a 37°C	Menor de 3
Coliformes Totales	Negativo
Hongos	Negativo
Levaduras	Negativo

Análisis Químico

Cada 1ml contiene:	
Acetaminofén	105.08mg/105.08%

ANALISIS INICIAL (60 DÍAS)

Análisis Físicos

Color	Rosado
Olor	Fresa
Sabor	Dulce-Amargo
pH a 25°C	4.96
Apariencia	Solución fluida, translúcida, sin precipitación.
Contacto con la tapa	Negativo

Análisis Microbiológico

Conteo Total Aeróbico a 37°C	Menor de 3
Coliformes Totales	Negativo
Hongos	Negativo
Levaduras	Negativo

Análisis Químico

Cada 1ml contiene:	
Acetaminofén	104.12mg/104.12%

ANALISIS INICIAL (90 DÍAS)

Análisis Físicos

Color	Rosado
Olor	Fresa
Sabor	Dulce-Amargo
pH a 25°C	4.98

Apariencia	Solución fluida, translúcida, sin precipitación.
Contacto con la tapa	Negativo
<u>Análisis Microbiológico</u>	
Conteo Total Aeróbico a 37°C	Menor de 3
Coliformes Totales	Negativo
Hongos	Negativo
Levaduras	Negativo
 <u>Análisis Químico</u>	
Cada 1ml contiene:	
Acetaminofén	102.98mg/102.98%

ANALISIS INICIAL (180 DÍAS)Análisis Físicos

Color	Rosado
Olor	Fresa
Sabor	Dulce-Amargo
pH a 25°C	5.02
Apariencia	Solución fluida, translúcida, sin precipitación.
Contacto con la tapa	Negativo

Análisis Microbiológico

Conteo Total Aeróbico a 37°C	Menor de 3
Coliformes Totales	Negativo
Hongos	Negativo
Levaduras	Negativo

Análisis Químico

Cada 1ml contiene:	
Acetaminofén	99.85mg/99.85%

Este es el promedio de 3 pruebas realizadas.

ESTABILIDAD ACELERADA DE CREMA HUMECTANTE:

NOMBRE DEL PRODUCTO	Crema Humectante
EMPAQUE/ENVASE	Primario: Frasco plástico blanco.
CONTENIDO	100ml
No. DE LOTE	Piloto No.1
TEMPERATURA UTILIZADA	40 °C
HUMEDAD RELATIVA	75%

ANALISIS INICIAL (0 DÍAS)

Análisis Físicos

Color	Amarillento
Olor	Dulce-Piña
pH a 25°C	6.5
Viscosidad	64.6
Apariencia	Viscoso y fluido.
Contacto con la tapa	Negativo

Análisis Microbiológico

Conteo Total Aeróbico a 37°C	Menor de 100UFC/g
Coliformes Totales	Negativo
Hongos	Negativo
Levaduras	Negativo

ANALISIS INICIAL (30 DÍAS)

Análisis Físicos

Color	Amarillento
Olor	Dulce-Piña
pH a 25°C	6.8
Viscosidad	64.3
Apariencia	Viscoso y fluido.
Contacto con la tapa	Negativo

Análisis Microbiológico

Conteo Total Aeróbico a 37°C	Menor de 100UFC/g
Coliformes Totales	Negativo
Hongos	Negativo
Levaduras	Negativo

ANALISIS INICIAL (60 DÍAS)

Análisis Físicos

Color	Amarillento
Olor	Dulce-Piña
pH a 25°C	6.6
Viscosidad	64.9
Apariencia	Viscoso y fluido.
Contacto con la tapa	Negativo

Análisis Microbiológico

Conteo Total Aeróbico a 37°C	Menor de 100UFC/g
Coliformes Totales	Negativo
Hongos	Negativo
Levaduras	Negativo
Análisis Físicos	

ANALISIS INICIAL (90 DÍAS)

Análisis Físicos

Color	Amarillento
Olor	Dulce-Piña
pH a 25°C	6.9
Viscosidad	65.3
Apariencia	Viscoso y fluido.
Contacto con la tapa	Negativo

Análisis Microbiológico

Conteo Total Aeróbico a 37°C	Menor de 100UFC/g
Coliformes Totales	Negativo
Hongos	Negativo
Levaduras	Negativo
Análisis Físicos	

ANALISIS INICIAL (180 DÍAS)

Análisis Físicos

Color	Amarillento
Olor	Dulce-Piña
pH a 25°C	6.9
Viscosidad	66.8
Apariencia	Viscoso y fluido.
Contacto con la tapa	Negativo

Análisis Microbiológico

Conteo Total Aeróbico a 37°C	Menor de 100UFC/g
Coliformes Totales	Negativo
Hongos	Negativo
Levaduras	Negativo
Análisis Físicos	

Este es el promedio de 3 pruebas realizadas.

ESTABILIDAD ACELERADA DE JALEA DE NARANJA:

NOMBRE DEL PRODUCTO	Jalea de Naranja
EMPAQUE/ENVASE	Primario: Frasco vidrio
CONTENIDO	150ml
No. DE LOTE	Piloto No.1
TEMPERATURA UTILIZADA	40 °C
HUMEDAD RELATIVA	75%

ANÁLISIS INICIAL (0 DÍAS)

Análisis Físicos

Color	Amarillento
Olor	Dulce-Naranja
pH a 25°C	3.34
Sabor	Naranja
Apariencia	Viscoso poco fluida.
Contacto con la tapa	Negativo

Análisis Microbiológico

Conteo Total Aeróbico a 37°C	Menor de 100UFC/g
Coliformes Totales	Negativo
Hongos	Negativo
Levaduras	Negativo

ANÁLISIS INICIAL (30 DÍAS)

Análisis Físicos

Color	Amarillento
Olor	Dulce-Naranja
pH a 25°C	3.43
Sabor	Naranja
Apariencia	Viscoso poco fluida.
Contacto con la tapa	Negativo

Análisis Microbiológico

Conteo Total Aeróbico a 37°C	Menor de 100UFC/g
Coliformes Totales	Negativo
Hongos	Negativo
Levaduras	Negativo

ANÁLISIS INICIAL (60 DÍAS)

Análisis Físicos

Color	Amarillento
Olor	Dulce-Naranja
pH a 25°C	3.50
Sabor	Naranja
Apariencia	Viscoso poco fluida.
Contacto con la tapa	Negativo

Análisis Microbiológico

Conteo Total Aeróbico a 37°C	Mayor de 100UFC/g
Coliformes Totales	Negativo
Hongos	Negativo
Levaduras	Negativo

ANÁLISIS INICIAL (90 DÍAS)

Análisis Físicos

Color	Amarillento
Olor	Dulce-Naranja
pH a 25°C	3.63
Sabor	Naranja
Apariencia	Viscoso poco fluida.
Contacto con la tapa	Negativo

Análisis Microbiológico

Conteo Total Aeróbico a 37°C	Mayor de 100UFC/g
Coliformes Totales	Negativo
Hongos	Negativo
Levaduras	Negativo

Análisis Físicos

ANÁLISIS INICIAL (180 DÍAS)

Análisis Físicos

Color	Amarillento
Olor	Dulce-Naranja
pH a 25°C	3.67
Sabor	Naranja
Apariencia	Viscoso poco fluida.
Contacto con la tapa	Negativo

Análisis Microbiológico

Conteo Total Aeróbico a 37°C	Mayor de 100UFC/g
Coliformes Totales	Negativo
Hongos	Negativo
Levaduras	Negativo
Análisis Físicos	

Este es el promedio de 3 pruebas realizadas.

Fuente: Datos obtenidos por Laboratorio San Cristóbal.

Anexo No.7: Inocuidad del Jarabe de Sacarosa

Análisis Microbiológico Jarabe no
sometido a esterilización:

Conteo Total Aeróbico a 37°C	Mayor de 100UFC/g
Coliformes Totales	Positivo
Hongos	Mayor de 10UFC/g
Levaduras	Mayor de 10UFC/g

Análisis Microbiológico Jarabe
sometido a esterilización:

Conteo Total Aeróbico a 37°C	Menor de 100UFC/g
Coliformes Totales	Negativo
Hongos	Negativo
Levaduras	Negativo

Fuente: Datos obtenidos por Laboratorio San Cristóbal.

13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilera, T. (2013). Colmena para Polinización y Traslado. Tesis tipo licenciatura. Universidad de Chile, Chile.
- Anónimo. (2009). Tema 14: Enzimas. Recuperado el 25 de agosto de 2015 de <http://www.bionova.org.es/biocast/documentos/tema14.pdf>
- Atienza M, Martínez J. (2002). "Formulación en farmacia pediátrica", (2da. Ed). Asociación Española de Farmacéuticos Formulistas. España: Litografía sevillana.
- Curtis, H. et al. (2008). Biología. (7ma edición). Argentina: Editorial Medica Panamericana
- Donoso, J. (2006). Biopolímeros. Recuperado el 25 de agosto de 2015 de http://www.uib.cat/facultat/ciencias/prof/josefa.donoso/campus/modulos/modulo4/modulo4_14.htm
- Enríquez, E. y Maldonado, C. (2008). Miel de Abejas Nativas de Guatemala. Universidad De San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación. Guatemala.
- Fernández, P. (2012). Dones del cielo: Abeja y miel en el mediterraneo antiguo. España: UNED.
- Flores, J., Ruiz, J., Ruz, M. et al. (1998). Cría controlada de abejas reinas de *Apis Mellifera* ibérica. Archivos de Zootecnia. 47(178): 347-350
- Food 4 farmers. (2010). La abeja de la Miel *Apis mellifera*. Recuperado el 24 de agosto de 2015 de <http://food4farmers.org/wp-content/uploads/2012/08/abeja.pdf>
- Hernández, A. Ruiz, M. (2010). Tratado de nutrición: Composición y calidad nutritiva de los alimentos, Volumen 2. (2da edición). España: Editorial Médica Panamericana.
- Hrassnigg, N., Brodschneider, R., Fleischmann, P. et al. (2006). Las abejas obreras (*Apis mellifera* L.) son capaces de aprovechar el almidón como combustible para el

vuelo y los zánganos no. Recuperado el 22 de agosto de 2015 de <http://www.apimondiafoundation.org/foundation/files/302s.pdf>

IICA. (2004). Miel de abeja. Nicaragua: Cadena Agroindustrial.

INPE. (2005). Abejas melíferas en la apicultura. Recuperado el 22 de agosto de 2015 de <http://www.abejasprepirineo.com/archivos/02-las-abejas.pdf>

Islapro. (2005). Anatomía externa de la abeja melífera. Recuperado el 22 de agosto de 2015 de <http://www.islapro.com/ecologia/Imagenes/01.pdf>

Jover, A.; García, J., Fajardo, A.; et.al. (2006). "Farmacia Práctica: Manual del Auxiliar de Farmacia". (3ra. Ed.). España: Editorial MAD, S.L,

Koolman, J. Rohm, K. (2005). Bioquímica : Texto y Atlas. España: Editorial Médica Panamericana.

Llopis MJ, Baixauli V. (1985). "La formulación magistral en la oficina de farmacia, 2.^a parte". España: Distribuciones Cid.

Mendizabal, F. (2005). Abejas: Manuales esenciales. Argentina: Editorial Albatros

Molina, J. (2008). Enzimas. Recuperado el 25 de agosto de 2015 de http://www.juntadeandalucia.es/averroes/ies_francisco_pacheco/Departam/Depabio/BM/ENZ.pdf

Nájera, O. (2010). Manual de Nutrición Apícola y Apicultura Migratoria. Recuperado el 24 de agosto de 2015 de <http://teca.fao.org/sites/default/files/resources/nutricionapicola.pdf>

Nates, G. (2005). Abejas silvestres y polinización. Manejo integrado de plagas y Agroecología (Costa Rica). 75(1): 7-20.

Padilla, F., Cuesta, A. (2003). Zoología Aplicada. España: Ediciones Díaz de Santos.

Peña, A. et al. (2004). Bioquímica. (2da edición). México: Limusa.

- Pérez, J. Noriega, N. (2006). Fisiología General: Enzimas. Open course ware. Universidad de Cantabria, España.
- Pérez, E., Serralde, A. Melendez, G. (2007). Efectos benéficos y deletéreos del consumo de fructosa. *Revista de Endocrinología y Nutrición*. 15(2): 67-74.
- QUATTROCCHI, O.; ADELAIRO de ANDRIZZI, S.; LABA, R.1992. Introducción a la HPLC; aplicación y práctica. Argentina, Graficas Faro. 407p.
- Rodríguez, F. (1999). Apicultura para pequeños emprendedores: Manual teórico-práctico para el manejo comercial de la abeja. España: Vida.
- Rudín, J. (1940). Reina, obreras y zánganos. La colmena moderna. *Revista de Agricultura (Costa Rica)*. 12(11): 499-500
- Saldivar, P. (1979). Plagas y Enfermedades de las abejas. Tesis grado ingeniería química. Universidad de Guadalajara, México.
- Salcedo, J., Montes, E., Pájaro, J. (2009). Producción de jarabes de fructosa por medio de la hidrólisis enzimática del almidón de yuca de las variedades Corpoica M TAI-8 y Corpoica orense. *Dyna*. 76(160): 121-130.
- Sammataro, A. (2005). El manual del Apicultor. Argentina: Letemendia.
- SKOOG, D. 2001. Principios de análisis instrumental. 5a . Ed. Madrid, McGraw-Hill. 1028 p.
- Soto, C. (2008). Estudio de mieles monoflorales a través de análisis palinológico, Físico, Químico y Sensorial. Tesis grado licenciatura. Universidad Austral de Chile, Chile.
- U.S. *Pharmacopeia & National Formulary USP 26-NF 21*. (2003). "U.S Pharmacopeia". United States Pharmacopeia Convention, Inc.
- Valderrama, J. (2010). "Determinación de Viscosidad". Recuperado el 25 de agosto de 2015 de:

<http://www.metalurgia.uda.cl/apuntes/Valderrama/LAB%204%20VISCOSIDAD.pdf>. Universidad de Atacama. Atacama.

Vera, L. Enzimas. Revista Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. 101(2):399.417.

Voet, D. Voet, J. (2006). Bioquímica. (3ra ed.). España: Editorial Medica Panamericana.

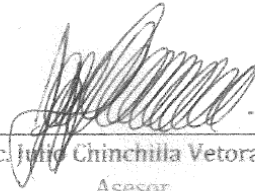
Woloj, D. (2010). Nuevas aplicaciones de la glicerina: Un análisis preliminar. Tesis grado Licenciatura. Universidad de Buenos Aires, Argentina.



Br. Karen Elizabeth Rodriguez Cisneros
Autora



Br. Estephania Liska de León
Autora



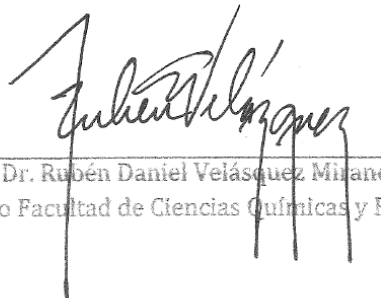
Lic. Julio Chinchilla Vitorazzi
Asesor



Licda. Lucrecia Martinez de Haase
Revisora



Licda. Hada Marteta Alvarado Beteta MA
Directora Escuela de Química Farmacéutica



Dr. Rubén Daniel Velásquez Miranda
Decano Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia