

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA



**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BROMATOLOGÍA Y
NUTRICIÓN HUMANA**

TRABAJO FINAL DE CARRERA

TÍTULO

**“EVALUACIÓN DE LA COMPOSICIÓN BROMATOLÓGICA Y SU
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA *Ananas comosus* (PIÑA) EN LAS
VARIEDADES DE CAYENA LIZA Y LORENZA”**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADO EN BROMATOLOGÍA Y NUTRICIÓN HUMANA.**

PRESENTADO POR LOS BACHILLERES

**JERSON DANIEL CONTRERAS TAMANI
LINCKER TAMANI MURAYARI**

ASESORADO POR:

Ing. EMILIO DÍAZ SANGAMA MSC.

IQUITOS - PERU

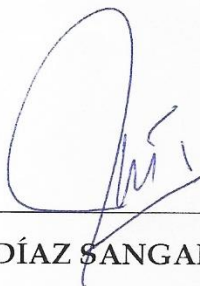
2016

AUTORIZACIÓN DEL ASESOR

Ing. Mg. EMILIO DIAZ SANGAMA, profesor principal de la Facultad de Industrias Alimentarias, adscrito al Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana:

INFORMA: Que los Bachilleres JERSON DANIEL CONTRERAS TAMANI y LINCKER TAMANI MURAYARI, han realizado bajo mi dirección el trabajo final de carrera intitulado: "EVALUACIÓN DE LA COMPOSICIÓN BROMATOLÓGICA Y SU CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA *Ananas comosus*. (PIÑA) EN LAS VARIEDADES DE CAYENA LIZA Y LORENZA", considerando que el mismo reúne los requisitos necesarios para ser presentado ante el Jurado Calificador y acceder al Título Profesional de Licenciado en Bromatología y Nutrición Humana.

AUTORIZO: A los citados bachilleres a presentar el trabajo final de Carrera, para proceder a su sustentación cumpliendo así la normativa vigente que regula los Grados y Títulos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Escuela de Formación Profesional de Bromatología y Nutrición Humana de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana.



Ing. EMILIO DÍAZ SANGAMA Msc.

ASESOR

MIEMBROS DEL JURADO

Tesis aprobada en la Sustentación Pública el 12 de Octubre del 2016 por el Jurado nombrado por la Dirección de Escuela de Formación Profesional de Bromatología y Nutrición Humana para optar el Título de:

LICENCIADO EN BROMATOLOGÍA Y NUTRICIÓN HUMANA



Alenquer Gerónimo Alva Arévalo
Ingeniero en Industrias Alimentarias

Ing. Alenquer G. Alva Arévalo
Presidente




LITTMAN GONZALES RÍOS
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
CIP: 35183

Ing. Littman Gonzales Ríos
Miembro Titular



Fernando Tello Celis
Ingeniero en Industrias Alimentarias

Ing. Fernando Tello Celis
Miembro Titular



Ing. Carlos Antonio Li Loo Kung, Dr.
Ingeniero en Industrias Alimentarias
Colegio de Ingenieros del Perú Nº 75104

Ing. Carlos A. Li Loo Kung
Miembro Suplente



UNAP

FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Escuela de Formación Profesional de
Bromatología y Nutrición Humana

ACTA DE SUSTENTACIÓN

En la ciudad de Iquitos, siendo las...^{18:15}..... horas del día Miércoles 12 de octubre 2016, en las instalaciones del Auditorium de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNAP, ubicado en la calle Nauta cuadra 5 de esta ciudad, se dio inicio a la sustentación pública del Trabajo de Final de Carrera intitulado "EVALUACION DE LA COMPOSICION BROMATOLÓGICA Y SU CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA *Ananas comosus* (PIÑA) EN LAS VARIEDADES DE CAYENA LIZA Y LORENZA", presentado por los bachilleres: **JERSON DANIEL CONTRERAS TAMANI y LINCKER TAMANI MURAYARI**, con el asesoramiento de don Emilio Diaz Sangama.

Estando el Jurado Calificador conformado por los siguientes miembros, según Resolución Decanal N° 173-FIA-UNAP-2016.

| | | |
|-------------------------------------|---|------------------|
| Ing. Alenguer Gerónimo Alva Arévalo | - | Presidente |
| Ing. Littman Gonzales Rios | - | Miembro |
| Ing. Fernando Tello Celis | - | Miembro |
| Ing. Carlos Antonio Li Loo Kung | - | Miembro Suplente |

Siendo las ^{19:20}..... horas del mismo día, se dio por concluida la sustentación, habiendo sido ^{Aprobada}..... con la nota de ¹⁴..... y el calificativo de ^{Buena}....., estando los bachilleres aptos para obtener el Título Profesional de Licenciado en Bromatología y Nutrición Humana.

El Jurado Calificador alcanzará a las sustentantes, si el caso lo requiere, las correcciones u observaciones presentadas.


Alenguer Gerónimo Alva Arévalo
Ingeniero en Industrias Alimentarias
CIP: 45167
Presidente


LITTMAN GONZALES RIOS
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
CIP: 95163
Miembro Titular


Fernando Tello Celis
Ingeniero en Industrias Alimentarias
Miembro Titular


Carlos Antonio Li Loo Kung
Ingeniero en Industrias Alimentarias
CIP: 75104
Miembro Suplente

DEDICATORIA

A mis amados padres Luis y Luz quienes con su esfuerzo, dedicación y ejemplo me enseñaron el significado de la vida... Los amo mucho. A mis queridos hermanos con todo el cariño del mundo.

Br. Jerson Daniel Contreras Tamani

A mis queridos padres Julio Cesar y Gladys, por los consejos y el apoyo incondicional que me brindaron para poder culminar una de mis metas, los amo, a mis hermanos Cesar, Rider, Paolo, Julio y Braulio por sus cariño y mi pareja Bertila por su apoyo y amor brindado en todo momento...

Br. Lincker Tamani Murayari

AGRADECIMIENTOS

A quien hizo posible todo este trabajo. Quien nos apoyó de manera incondicional, permaneciendo a nuestro lado fielmente. A quien se merece todo nuestro reconocimiento y gratitud. Para ti, fiel amigo: Jesucristo.

A nuestros padres por inspirarnos a seguir siempre adelante en el desarrollo de nuestras metas.

A la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, la Facultad de Industrias Alimentarias, en especial a la Escuela de formación profesional de Bromatología y Nutrición Humana, por todos los años de enseñanzas y experiencias vividas.

Al ing. Emilio Díaz Sangama por las enseñanzas, apoyo y asesoría brindado durante todo el proceso del desarrollo de esta tesis.

Al ing. Alenguer Alva Arévalo por su tiempo y las enseñanzas dedicados en la realización de la parte experimental de antioxidantes, y haberme ayudado en la revisión de nuestro proyecto de tesis.

A las compañeras Carrol Zurita Rodríguez y Rosa Corina Acosta Vásquez, por sus apoyo brindado en la parte experimental de esta tesis.

Br. Jerson Daniel Contreras y Lincker Tamani Murayari

ÍNDICE DE CONTENIDOS

| | Página |
|--|--------|
| DEDICATORIA | i |
| AGRADECIMIENTO | ii |
| ÍNDICE DE CONTENIDOS..... | iii |
| ÍNDICE DE TABLAS | ix |
| ÍNDICE DE FIGURAS | xi |
| ÍNDICE DE ANEXOS..... | xiii |
| RESUMEN | 01 |
| ABSTRAC | 02 |
| CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN | 03 |
| 1.1 INTRODUCCIÓN..... | 04 |
| 1.2 OBJETIVOS..... | 06 |
| CAPÍTULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA..... | 07 |
| 2.1 PIÑA | 08 |
| 2.1.1 Descripción General..... | 08 |
| 2.1.2 Aspectos botánicos..... | 08 |
| 2.1.3 Taxonomía | 10 |
| 2.1.4 Composición nutricional de la piña | 11 |
| 2.1.5 Variedades de piña | 13 |
| 2.1.6 Principales variedades en el Perú..... | 14 |
| 2.2 ANTIOXIDANTES..... | 15 |
| 2.2.1 Definición | 15 |
| 2.3 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE | 17 |
| 2.3.1 Actividad Antioxidante en frutas..... | 17 |
| 2.4 RADICALES LIBRES..... | 19 |
| 2.5 LA VITAMINA “C” O ÁCIDO ASCÓRBICO | 20 |
| 2.6 COMPUESTOS POLIFENOLICOS..... | 21 |
| 2.6.1 Actividad biológica de los compuestos fenólicos..... | 22 |
| 2.6.1 Actividad antioxidante de los fenoles en los alimentos | 22 |
| 2.6.2 Clasificación de los compuestos fenólicos | 23 |
| 2.6.2.1 Los compuestos no flavonoides..... | 23 |

| | | |
|-----------|--|----|
| 2.6.2.2 | Flavonoides..... | 23 |
| 2.6.2.2.1 | Determinación de flavonoides..... | 24 |
| 2.6.2.2.2 | Acción antioxidante de los flavonoides | 25 |
| 2.6.2.2.3 | Estructura de flavonoide | 26 |
| 2.6.2.3 | Determinación de antocianinas | 26 |
| 2.6.2.4 | Determinación de taninos..... | 27 |
| 2.6.2.4.1 | Actividad antioxidante de taninos | 28 |
| 2.6.2.4.2 | Estructura y estabilidad..... | 29 |
| 2.7 | ENSAYO DEL DPPH (1,1-DIFENIL-2-PICRIL-HIDRAZILO) (Berset <i>et al.</i> , 1994) | 29 |
| 2.7.1 | Los resultados del ensayo DPPH se han presentado de diferentes maneras..... | 29 |
| 2.8 | PARÁMETROS DE MEDICIÓN..... | 30 |
| 2.8.1 | La Transmitancia (t)..... | 30 |
| 2.8.2 | La Absorbancia (a) | 31 |
| 2.8.3 | Longitud de onda..... | 31 |
| 2.8.4 | Índice de Absorbancia | 32 |
| 2.8.5 | Curva Espectral..... | 32 |
| | CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS | 34 |
| 3.1 | LUGAR DE EJECUCIÓN | 35 |
| 3.2 | MATERIA PRIMA | 35 |
| 3.3 | MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS..... | 35 |
| 3.4 | TIPO Y DISEÑO DE ESTUDIO..... | 38 |
| 3.5 | DISEÑO MUESTRAL | 38 |
| 3.6 | PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS DE LA <i>Ananas comosus</i> (PIÑA) EN LAS VARIEDADES DE CAYENA LIZA Y LORENZA | 39 |
| 3.7 | MÉTODOS..... | 41 |
| 3.7.1 | Análisis físico químicos | 41 |
| 3.7.1.1 | Determinación de Humedad. A.O.A.C. 2014. Método 934.06..... | 41 |
| 3.7.1.2 | Determinación de Sólidos Totales. A.O.A.C. 2014. Método 920.151 | 41 |

| | | |
|-----------|---|----|
| 3.7.1.3 | Determinación de Sólidos Solubles Totales. A.O.A.C. 2014. Método 932.1..... | 41 |
| 3.7.1.4 | Determinación de Azúcares Reductores. A.O.A.C. 2014. Método 925.36 .. | 42 |
| 3.7.1.5 | Determinación de Cenizas Totales. A.O.A.C. 2014. Método 940.26 | 42 |
| 3.7.1.6 | Determinación de Proteínas Totales. A.O.A.C. 2014. Método 920.152..... | 43 |
| 3.7.1.7 | Determinación de Acidez Titulable. A.O.A.C. 2014. Método 967.21..... | 44 |
| 3.7.1.8 | Determinación de pH. A.O.A.C.2014. Método 942.15 | 45 |
| 3.7.1.9 | Determinación de Fibra Cruda. A.O.A.C. 2014. Método 930.10 | 45 |
| 3.7.1.10 | Determinación de Vitamina C. A.O.A.C. 2014. Método 966.16..... | 46 |
| 3.7.2 | Análisis Microbiológico..... | 46 |
| 3.7.2.1 | Recuento de microorganismos <i>Coliformes/Escherichia coli</i> mediante Técnica Petrifilm AOAC Método Oficial 991.14..... | 46 |
| 3.7.2.2 | Recuento de microorganismos <i>Salmonella sp</i> mediante Técnica Petrifilm AOAC Método Oficial 2003.09..... | 48 |
| 3.7.3 | Determinación de β -carotenos y retinol en pulpa fresca de <i>Ananas comosus</i> en las variedades utilizadas | 50 |
| 3.7.3.1 | Determinación de β -carotenos utilizando el Espectrofotómetro (SOTERO Y GARCIA 2009)..... | 50 |
| 3.7.3.2 | Determinación de Retinol (SOTERO Y GARCIA 2009) | 51 |
| 3.7.4 | Determinación de la capacidad antioxidante | 51 |
| 3.7.4.1 | Evaluación de la actividad antioxidante por el método 2,2 - difenil - 1 - picrilhidrazil (DPPH)..... | 51 |
| 3.7.4.2 | Preparación del extracto etanólico..... | 52 |
| 3.7.4.3 | Determinación de fenoles totales..... | 52 |
| 3.7.4.4 | Determinación de antocianinas, por el método ph-diferencial..... | 53 |
| 3.7.4.4.1 | Procedimiento | 53 |
| 3.7.4.5 | Determinación de flavonoides..... | 54 |
| 3.7.4.6 | Determinación taninos | 54 |
| 3.7.5 | Análisis de los datos | 55 |

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES | 56 |
| 4.1 ANÁLISIS FISCOQUÍMICOS..... | 57 |
| 4.1.1 Análisis Fiscoquímicos de <i>Ananas comosus</i> (piña) en las variedades de cayena liza y lorena..... | 57 |
| 4.1.2 Comparación de resultados de Análisis Fiscoquímicos | 58 |
| 4.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS..... | 59 |
| 4.2.1 Análisis microbiológico de pulpa de <i>Ananas comosus</i> en la variedad de cayena liza | 59 |
| 4.2.2 Análisis microbiológico de pulpa <i>Ananas comosus</i> piña en la variedad de lorena..... | 60 |
| 4.3 DETERMINACIÓN DE β - CAROTENOS Y RETINOL EN PULPA FRESCA DE <i>Ananas comosus</i> en las VARIEDADES UTILIZADAS | 60 |
| 4.3.1 β -carotenos en cayena liza..... | 60 |
| 4.3.2 β -carotenos en lorena..... | 61 |
| 4.3.3 Retinol en <i>Ananas comosus</i> cayena liza | 62 |
| 4.3.4 Retinol en <i>Ananas comosus</i> en la variedad de lorena | 62 |
| 4.4 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, FENOLES TOTALES, ANTOCIANINAS, FLAVONOIDES Y TANINOS DE LAS CÁSCARAS DE <i>Ananas comosus</i> (PIÑA) EN LAS VARIEDADES DE CAYENA LIZA Y LORENZA..... | 63 |
| 4.4.1 Determinación de la actividad antioxidantes de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) en la variedad de cayena liza - con el método del DPPH... 63 | |
| 4.4.1.1 Evaluación de fenoles totales de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza | 65 |
| 4.4.1.2 Evaluación de antocianinas de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza | 66 |
| 4.4.1.3 Evaluación de flavonoides de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza | 68 |
| 4.4.1.4 Evaluación de taninos de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza | 68 |

| | |
|---|----|
| 4.4.1.5 Resumen de compuestos fenólicos en cáscara de <i>Ananas comosus</i> piña en la variedad de cayena liza | 69 |
| 4.4.2 Determinación de la actividad antioxidantes de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) en la variedad de loreña | 70 |
| 4.4.2.1 Evaluación de fenoles totales de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad loreña | 72 |
| 4.4.2.2 Evaluación de antocianinas de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad loreña | 72 |
| 4.4.2.3 Evaluación de flavonoides de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad loreña | 74 |
| 4.4.2.4 Evaluación de taninos de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad loreña..... | 74 |
| 4.4.2.5 Resumen de los compuestos fenólicos en cáscara de <i>Ananas comosus</i> en la variedad de loreña | 75 |
| 4.4.3 Comparación de compuestos fenólicos de las cáscaras de las variedades de cayena lisa y loreña | 76 |
| 4.5 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, FENOLES TOTALES, ANTOCIANINAS, FLAVONOIDES Y TANINOS DE LAS PULPAS DE <i>Ananas comosus</i> PIÑA EN LAS VARIEDADES DE CAYENA LIZA Y LORENZA..... | 77 |
| 4.5.1 Determinación de la actividad antioxidantes de la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) en la variedad de cayena lisa - con el método del DPPH... 77 | |
| 4.5.1.1 Evaluación de fenoles totales de la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) variedad cayena lisa | 79 |
| 4.5.1.2 Evaluación de antocianinas de la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) variedad cayena lisa | 80 |
| 4.5.1.3 Evaluación de flavonoides de la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) variedad cayena lisa | 82 |
| 4.5.1.4 Evaluación de taninos en la pulpa de <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena lisa | 82 |
| 4.5.1.5 Resumen de compuestos fenólicos en la variedad de cayena lisa..... | 84 |

| | |
|--|------------|
| 4.5.2 Determinación de la actividad antioxidantes de la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) en las variedad de loreña | 85 |
| 4.5.2.1 Evaluación de fenoles totales de pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) variedad loreña..... | 86 |
| 4.5.2.2 Evaluación de antocianinas de la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) variedad loreña | 87 |
| 4.5.2.3 Evaluación de flavonoides de la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) variedad loreña..... | 88 |
| 4.5.2.4 Evaluación de taninos de la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad loreña..... | 89 |
| 4.5.2.5 Resumen de los compuestos fenólicos en pulpa de (piña) - variedad de loreña..... | 90 |
| 4.5.3 Comparación de compuestos fenólicos en pulpas de <i>Ananas comosus</i> en las variedades de cayena liza y loreña | 91 |
| CAPÍTULO V: CONCLUSIONES | 93 |
| CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES | 95 |
| CAPÍTULO VII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 97 |
| CAPÍTULO VIII: ANEXOS | 107 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | Página |
|--------------|--|
| TABLA N° 01. | Clasificación taxonómica 10 |
| TABLA N° 02. | Composición de la Piña en 100 gramos de porción comestible 12 |
| TABLA N° 03. | Fuentes de antioxidantes en los alimentos..... 18 |
| TABLA N° 04. | Concentración relativa de compuestos fenólicos en tejidos vegetales..... 21 |
| TABLA N° 05. | Principales clases de compuestos fenólicos en frutos 22 |
| TABLA N° 06. | Tabla de materiales 35 |
| TABLA N° 07. | Tabla de equipos 36 |
| TABLA N° 08. | Tabla de Reactivos..... 37 |
| TABLA N° 09. | Comparación de Análisis Físicoquímicos de <i>Ananas comosus</i> Piña en las variedades de Cayena liza y Lorenza..... 57 |
| TABLA N° 10. | Comparación de Análisis Físicoquímicos con otros autores encontrados en <i>Ananas comosus</i> Piña. 58 |
| TABLA N° 11. | Análisis microbiológicos de pulpa fresca de la variedad de cayena liza..... 59 |
| TABLA N° 12. | Análisis microbiológicos de pulpa fresca de la variedad de Lorenza..... 60 |
| TABLA N° 13. | Determinación β - Carotenos de pulpa fresca de cayena liza 60 |
| TABLA N° 14. | Determinación β - Carotenos de pulpa fresca de Lorenza ... 61 |
| TABLA N° 15. | Determinación de retinol en pulpa fresca de cayena liza 62 |
| TABLA N° 16. | Determinación de retinol en pulpa fresca de Lorenza 62 |
| TABLA N° 17. | Promedios de las repeticiones y lecturas realizadas en la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza.. 64 |
| TABLA N° 18. | Porcentaje de inhibición de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza 64 |
| TABLA N° 19. | Contenido de fenoles totales de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza. 66 |

| | |
|---------------------|--|
| TABLA N° 20. | Absorciones y cálculo de antocianinas presentes en la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza 67 |
| TABLA N° 21. | Determinación de flavonoides de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza 68 |
| TABLA N° 22. | Contenido de taninos de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza..... 69 |
| TABLA N° 23. | Promedios de las repeticiones y lecturas realizadas en la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad lorena..... 70 |
| TABLA N° 24. | Porcentaje de inhibición de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad de Lorena 71 |
| TABLA N° 25. | Contenido de fenoles totales de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad Lorena 72 |
| TABLA N° 26. | Absorciones y cálculo de antocianinas presentes en la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad lorena 74 |
| TABLA N° 27. | Determinación de flavonoides de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad lorena 74 |
| TABLA N° 28. | Contenido de taninos de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad lorena 75 |
| TABLA N° 29. | Promedios de las repeticiones y lecturas realizadas en la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza 77 |
| TABLA N° 30. | Porcentaje de inhibición de la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad Cayena liza 78 |
| TABLA N° 31. | Contenido de fenoles totales de la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza 79 |
| TABLA N° 32. | Absorciones y cálculo de antocianinas presentes en la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza 81 |
| TABLA N° 33. | Determinación de flavonoides de la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza 82 |
| TABLA N° 34. | Contenido de taninos de la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza 83 |

| | | |
|---------------------|---|----|
| TABLA N° 35. | Promedios de las repeticiones y lecturas realizadas en la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad Lorenza | 85 |
| TABLA N° 36. | Porcentaje de inhibición de la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad Lorenza | 85 |
| TABLA N° 37. | Contenido de fenoles totales de la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad Lorenza | 87 |
| TABLA N° 38. | Absorciones y cálculo de antocianinas presentes en la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad lorenza | 88 |
| TABLA N° 39. | Contenido de flavonoides presentes en la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad lorenza | 89 |
| TABLA N° 40. | Contenido de taninos de la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) variedad lorenza..... | 89 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | | |
|----------------------|--|----|
| FIGURA N° 01. | Obtención del extractos de la pulpa y cáscara de <i>Ananas comosus</i> (piña) en las variedades de Cayena liza y Lorenza . | 40 |
| FIGURA N° 02. | Porcentaje de inhibición a las diferentes concentraciones de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza.. | 65 |
| FIGURA N° 03. | Absorción del extracto etanólico de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza de 400 a 700 nm a pH 4.5 para la determinación de antocianinas..... | 66 |
| FIGURA N° 04. | Absorción del extracto etanólico de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza de 400 a 700 nm a pH 1 para la determinación de antocianinas..... | 67 |
| FIGURA N° 05. | Resumen de Compuestos fenólicos en cáscara de <i>Ananas comosus</i> piña en la variedad de cayena liza..... | 69 |
| FIGURA N° 06. | Porcentaje de inhibición a las diferentes concentraciones de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad lorenza..... | 71 |
| FIGURA N° 07. | Absorción del extracto etanólico de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad lorenza de 400 a 700 nm a pH 4.5 para la determinación de antocianinas..... | 73 |

| | | |
|----------------------|--|----|
| FIGURA N° 08. | Absorción del extracto etanólico de la cáscara de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad lorena de 400 a 700 nm a pH 1 para la determinación de antocianinas | 73 |
| FIGURA N° 09. | Resumen de Compuestos fenólicos en cáscara de <i>Ananas comosus</i> piña en la variedad de lorena..... | 75 |
| FIGURA N° 10. | Comparación de compuestos fenólicos de las cáscaras de <i>Ananas comosus</i> en las variedades de cayena liza y lorena.. | 76 |
| FIGURA N° 11. | Porcentaje de inhibición a las diferentes concentraciones de la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza | 78 |
| FIGURA N° 12. | Absorción del extracto etanólico de la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza de 400 a 700 nm a pH 4.5 para la determinación de antocianinas..... | 80 |
| FIGURA N° 13. | Absorción del extracto etanólico de la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad cayena liza de 400 a 700 nm a pH 1 para la determinación de antocianinas..... | 81 |
| FIGURA N° 14. | Resumen de los compuestos fenólicos en pulpa de la <i>Ananas comosus</i> en la variedad de cayena liza | 84 |
| FIGURA N° 15. | Porcentaje de inhibición a las diferentes concentraciones de la pulpa de <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad Lorena | 86 |
| FIGURA N° 16. | Absorción del extracto etanólico de la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad de lorena de 400 a 700 nm a pH 4.5 para la determinación de antocianinas..... | 87 |
| FIGURA N° 17. | Absorción del extracto etanólico de la pulpa de la <i>Ananas comosus</i> (piña) - variedad de lorena de 400 a 700 nm a pH 1 para la determinación de antocianinas..... | 88 |
| FIGURA N° 18. | Resumen de compuestos fenólicos en pulpa de Piña variedad lorena..... | 90 |
| FIGURA N° 19. | Cuadro comparativo de compuestos fenólicos presentes en las pulpas de las variedades de cayena liza y lorena..... | 91 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | | |
|--------------|--|-----|
| ANEXO N° 01. | Norma Sanitaria de Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los alimentos y Bebidas de consumo humano (2008)..... | 107 |
| ANEXO N° 02. | Procedimientos realizados en el análisis de la calidad microbiológica de las muestras | 108 |
| ANEXO N° 03. | Resultados de los análisis microbiológicos realizados a la <i>Ananas comosus</i> Piña en la variedad de cayena liza..... | 112 |
| ANEXO N° 04. | Resultados de los análisis microbiológicos realizados a la <i>Ananas comosus</i> Piña en la variedad de lorena | 114 |
| ANEXO N° 05. | Absorbancia del extracto de la cáscara de <i>Ananas comosus</i> piña variedad cayena liza, con el método DPPH..... | 116 |
| ANEXO N° 06. | Absorbancia del extracto de la cáscara de <i>Ananas comosus</i> piña variedad lorena, con el método DPPH..... | 117 |
| ANEXO N° 07. | Absorbancia del extracto de la pulpa de <i>Ananas comosus</i> piña variedad cayena liza, con el método DPPH..... | 119 |
| ANEXO N° 08. | Absorbancia del extracto de la pulpa de <i>Ananas comosus</i> piña variedad lorena, con el método DPPH..... | 120 |
| ANEXO N° 09. | Curva padrón de ácido gálico para cálculo de Fenoles Totales | 122 |
| ANEXO N° 10. | Curva estándar de taninos para cálculos de taninos..... | 122 |
| ANEXO N° 11. | Fotos | 123 |

“EVALUACIÓN DE LA COMPOSICIÓN BROMATOLÓGICA Y SU CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA *Ananas comosus* (PIÑA) EN LAS VARIEDADES DE CAYENA LIZA Y LORENZA”

RESUMEN

La presente investigación se realizó en las instalaciones de la Planta Piloto de la Facultad de Industrias Alimentarias, tuvo como objetivo realizar la evaluación de la composición bromatológica y su capacidad antioxidante de la *Ananas comosus* (piña) en las variedades de cayena liza y loreña.

De la fruta *Ananas comosus* (Piña) de las variedades Cayena liza y Loreña, recolectado del Caserío “Ahucayo” ubicada en el río Amazonas, distrito de Fernando Loes. Se realizó análisis fisicoquímicos, microbiológicos, β -carotenos, retinol y también se evaluó el contenido de antioxidantes en cáscara y pulpa en las dos variedades de Cayena liza y Loreña.

Se empleó una metodología experimental, utilizando un diseño por conveniencia; se realizó diferentes análisis fisicoquímicos, microbiológicos y determinación de actividad antioxidantes y compuestos fenólicos. Se evaluó el contenido de antioxidantes en cáscara y pulpa en las dos variedades, al extracto obtenido por maceración en etanol con el 1% de ácido fórmico, se realizaron pruebas de la Actividad Antioxidante (AA) y con los datos obtenidos por espectrofotómetro UV-Vis se determinó la presencia de Fenoles Totales, Antocianinas, Flavonoides y Taninos de la cáscara y pulpa de Piña en Cayena liza y loreña.

La Actividad Antioxidantes de la cáscaras de Piña en las variedades de Cayena liza y Loreña se debe a la presencia mayoritaria de Fenoles Totales, en cambio en las Pulpas se deben a los fenoles totales y flavonoides en Piña Cayena liza y en Piña Loreña se debe solo a los Fenoles Totales.

Palabras claves: Antioxidantes, compuestos fenólicos, cayena liza, loreña, antocianinas, flavonoides.

**"EVALUATION OF THE BROMATOLOGICAL COMPOSITION AND ITS
ANTIOXIDANT CAPACITY OF THE *Ananas comosus* (PINEAPPLE) IN THE
VARIETIES OF CAYENA LIZA AND LORENZA"**

ABSTRAC

The present research was carried out in the facilities of the Pilot Plant of the Faculty of Food Industries, aimed to carry out the evaluation of the bromatological composition and its antioxidant capacity of *Ananas comosus* (pineapple) in the varieties of cayena liza and lorenza ".

Of the fruit *Ananas comosus* (Piña) of the varieties Cayena liza and Lorenza, collected from the "Ahucayo" hamlet located in the Amazon river, district of Fernando Lores. Microbiological, microbiological, β -carotene and retinol analyzes were performed and the antioxidant content in the shell and pulp was evaluated in the two varieties of Cayenne liza and Lorenza.

An experimental methodology was used, using a design for convenience; we performed different physicochemical, microbiological and antioxidant activity analysis and phenolic compounds. The content of antioxidants in the shell and pulp was evaluated in the two varieties, the extract obtained by maceration in ethanol with 1% of formic acid, tests of the Antioxidant Activity (AA) and the data obtained by UV-Vis spectrophotometer The presence of Total Phenols, Anthocyanins, Flavonoids and Tannins from the peel and pineapple pulp in Cayenne liza and lorenza were determined.

The activity Antioxidants of pineapple peels in the varieties of Cayenne liza and Lorenza is due to the majority presence of Total Phenols, while in the Pulps are due to the total phenomena and flavonoids in Pineapple Cayenne liza and Piña Lorenza is owed alone To the Total Phenols.

Key words: Antioxidants, phenolic compounds, cayenne liza, lorenza, anthocyanins, flavonoids.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

1.1 INTRODUCCIÓN.

La planta más conocida de la familia de las Bromeliaceae es la piña. Es el único de esta familia que es cultivado para alimento humano. (LEAL, 1989)

El cultivo de piña en el Perú, es producido para ser consumida al estado fresco y muy poco para la industria de enlatado. Las variedades que se utilizan apenas cubren el mercado nacional. En los últimos diez años se viene ampliando las áreas de piña con la variedad "Cayena liza" la de mayor demanda internacional por su calidad superior a otras que actualmente se cultivan en la selva. (INIA, 1997)

Todo esto gracias a su agradable sabor, sus varios beneficios antioxidantes, diuréticos y nutritivos (0% grasa, 0% colesterol, tiene un alto contenido de vitaminas A y C, azúcares y potasio). (SISTEMA DE INTELIGENCIA DE MERCADOS - Bogotá)

La incapacidad para neutralizar radicales libres en nuestro cuerpo, nos obliga a recurrir nutrientes que tengan la propiedad de neutralizarlos. Podemos decir que un nutriente tiene propiedades antioxidantes cuando es capaz de neutralizar la acción de una molécula inestable, es decir un radical libre, sin perder su propia estabilidad. (HALLIWELL, 2006).

El consumo de frutas y verduras, está ligado con la protección de ciertas enfermedades, tales como enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares e incluso cáncer, dicha actividad que se le otorga a los diferentes antioxidantes contenidos en ellos, como vitamina C, vitamina E, beta-caroteno, también se debe a otros compuestos tales como polifenoles y flavonoides (flavonas, isoflavonas, catequinas) que son componentes que se consumen en la dieta y, que presentan una fuerte capacidad antioxidante. Es por esta razón que resulta importante determinar la capacidad antioxidante de las diferentes frutas y vegetales (WANG *et al.*, 1996; SUDHA *et al.*, 2011).

Todo lo expuesto anteriormente tanto con la variedad de *Ananas comosus* Piña y sus componentes nutricionales, sirvieron como base para la presente investigación, la importancia que tiene esta fruta como fuente de vitaminas y minerales, por lo cual se planteó como objetivo, Realizar la evaluación bromatológica y determinar la capacidad antioxidante de la piña en las variedades de cayena liza y lorena, recolectado del centro poblado de Ahucayo, ubicado a orillas del río Amazonas, distrito de Fernando Loes, provincia de Maynas, departamento de Loreto.

1.2 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.

1.2.1 Objetivo General.

- Realizar la evaluación de la composición bromatológica y determinar la capacidad antioxidante de la piña (*Ananas comosus*) en las variedades de cayena liza y loreña, de la amazonia peruana, del centro poblado de Ahucayo.

1.2.2 Objetivos Específicos.

- Realizar el análisis bromatológico de la materia prima en estudio (piña), en las variedades de Cayena liza y Loreña.
- Evaluar la capacidad antioxidante por el método DPPH (1,1 difenil -1-picrilhidrazil) o Folin - Ciocalteu. y ABTS.
- Realizar el análisis microbiológico de la Piña, con la finalidad de determinar la calidad sanitaria e inocuidad, según norma sanitaria establecida.
- Determinar el grado de maduración, compuestos fenólicos y vitamina C con la finalidad de identificar cuantitativamente metabolitos secundarios responsables de la actividad antioxidante.

CAPÍTULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

2.1 PIÑA

2.1.1 Descripción General:

- **Origen.**

Es originaria de América del sur, con posibilidad que sea del Brasil o Paraguay; cuando llegaron los españoles, encontraron a la piña ya domesticada, cultivada por los aborígenes, quienes sembraban varios tipos, lo llamaron piña, aunque su verdadero nombre de origen guaraní, es *ananá*, de donde proviene su nombre científico. (FEDECAFÉ, 1987)

La piña, antes del descubrimiento de América ya formaba parte de la alimentación de los nativos del lugar. No se puede verificar la fecha con exactitud en que la piña fue dispersa a las demás partes tropicales de América, tampoco si fueron los exploradores españoles en hacer esta tarea. Lo que sí se sabe con exactitud es la primera vez que se cultivó piña en Europa, que fue a finales del siglo XVII y que entre los siglos XVIII y XIX la producción de la fruta estaba totalmente desarrollada en todo el continente y en el resto del mundo. (ROHRBACH *et al.*, 2003)

En Malasia se practica el cultivo de la piña en tierras bajas húmedas tropicales, y en Tailandia sobre suelos turbosos, la variedad que se cultiva no es "Cayena" sino el "Singapore Spanish". En Costa de Marfil es el único productor importante de "Cayena" en las regiones tropicales húmedas. (SAMSON, 1991)

2.1.2 Aspectos Botánicos:

La piña (*Ananas comosus* (L) Merr.) es una planta monocotiledónea, herbácea y perenne. El tallo está cubierto de hojas lanceoladas envolventes y están en forma de espiral, se encuentran en un número de 70 a 80 hojas por planta, los bordes de éstas pueden contener espinas o libres de éstas según la variedad. (JIMÉNEZ 1999)

Generalmente las raíces son muy superficial, se localizan en los primeros quince centímetros superiores del suelo aunque pueden profundizar hasta sesenta centímetros o más. La inflorescencia contiene de 100 a 200 flores dispuestas en forma de espiral, fusionadas entre sí y con el tallo central, que dan origen a un fruto partenocárpico del cual la cáscara está formada por los sépalos y brácteas de la flor. (JIMÉNEZ, 1999)

El fruto para la primera cosecha se forma en un pedúnculo largo localizado en el ápice del tallo del brote planteado inicialmente; para la segunda cosecha se forma sobre brotes laterales del primer tallo. (SENA, 1990)

Raíz. Presenta raíz primaria solamente en plantas obtenidas a partir de semilla, pero ésta muere pronto. En cultivos realizados con material vegetativo, todas las raíces son adventicias, nacen y se desarrollan de los nudos del tallo, con raíces secundarias y aún terciarias.

Tallo. Tiene forma de mazo y su longitud y grosor depende de la variedad; por lo general es reducido, con entrenudos cortos y presenta raíces adventicias en toda su longitud, llegando hasta menos de un (1) centímetros del moristema terminal. (SENA, 1990)

Hojas. Las hojas son acanaladas y están colocadas a lo largo del tallo formando una espiral destrógira o lexógira y con espinas distribuidas uniformemente a lo largo de las hojas. Una planta adulta de la variedad Clavo Roja presenta de 70 a 80 hojas.

Pedúnculo. Une al fruto con el tallo de la planta. Tiene entrenudos relativamente largos y presenta algunas hojas cortas; de las yemas de éste pedúnculo proceden los llamados retoños basales.

Corona. Es prácticamente la yema terminal de la planta y se presenta desde el mismo momento en que aparece la inflorescencia. Se desarrolla mientras dura la formación del fruto y una vez maduro entra en estado de reposo hasta su plantación.

Fruto. El fruto de la piña es una sorosis, y es el conjunto de cada frutículo individual. Nace en el ápice del pedúnculo, cuya parte comestible consiste en los ovarios, base de los sépalos, brácteas y la corteza del eje. La cáscara está formada por los sépalos y brácteas de la flor. Es un fruto no climatérico. El desarrollo y maduración de la fruta se da en secuencia, es decir, desde su base hasta la parte superior. (MORAZÁN, 2010)

Flor. La inflorescencia es una espiga que sobresale del meristemo apical de la planta. Tiene forma de espiral y está compuesta de 150-200 flores individuales dispuestas alrededor del eje central. El conjunto de estas flores individuales dan origen al fruto. (BONATTI *et al.*, 2005).

2.1.3 Taxonomía.

PAC (2005), clasifica a la piña de la siguiente manera:

TABLA N° 01. Clasificación taxonómica.

| <i>Ananas comosus</i> Piña | |
|--------------------------------------|-----------------------------|
| Reino : Vegetal | Vegetal |
| Clase : Magnoliopsida | Magnoliopsida |
| Orden : Bromeliales | Bromeliales |
| Familia : Bromeliaceae | Bromeliaceae |
| Género : <i>Ananas</i> | <i>Ananas</i> |
| Especie: <i>A. comosus</i> (L) Merr. | <i>A. comosus</i> (L) Merr. |

Fuente: PAC (2005)

La familia Bromeliaceae presenta 50 géneros y 2000 especies distribuidas en hábitat diferentes para el género *Ananas* según Smith (1979). La variedad *Ananas comosus* (L.) Merr. Comprende diferentes especies: *Ananas*

monstrosus, *A. ananasoides*, *A. ananas*, *A. paraguayensis*, *A. lucidus*, *A. bracteatus*, *A. fritzmuelleri* y *A. comosus*. De las mencionadas solamente *A. comosus*, es la única especie comestible y comercial. (PY Y GUYOT, 1970).

Las variedades de piña más cultivadas a nivel mundial son del género *Ananás Comosus L. Merrill* (nombre científico) (CONTRERAS CHACÓN, R., 2001). Existen también, en menor grado, producciones de *Ananás Sativa Lindl* (nombre científico).

2.1.4 Composición Nutricional de la piña.

La Piña es una fruta rica en carbohidratos, vitaminas y minerales, aporta también fibra a la dieta humana. Es conocida como un alimento digestivo, debido a que contiene Bromelina, que es una enzima que actúa sobre la proteína. (FEDECAFÉ, 1987)

“La piña es una fruta rica en azúcares, vitaminas del grupo A, B, C y E, sales minerales y ácidos orgánicos que explican sus virtudes “dinamizantes”. Su ingrediente activo es la Bromelina, una mezcla de 5 enzimas proteolíticas que difieren unas de otras por su capacidad de oxidar reducir sustratos específicos. Además, es rica en ácido málico, cítrico y ascórbico; sales minerales de calcio, fósforo y hierro; glúcidos como sacarosa, glucosa y levulosa, de 10 gr. de fruto podemos obtener hasta 0.87 gr. de bromelina. Que es una potente enzima que ha revolucionado la dietética mundial, sobretodo en tratamientos para adelgazamiento y anticelulíticos”. (CASTAÑEDA, 2003)

Tiene propiedades nutritivas, porque tiene un alto contenido de agua, destaca por su aporte de carbohidratos y bromelina, la enzima que ayuda a la digestión de las proteínas. A pesar de su sabor dulce, su valor calórico es moderado respecto a otros nutrientes, destaca su contenido de potasio, yodo y vitamina C. La vitamina C, colabora en la formación de colágeno, huesos y dientes, glóbulos rojos y favorece la absorción del hierro de los

alimentos y la resistencia a las interacciones. Dicha vitamina posee además acción antioxidante su aporte de fibra mejora el tránsito intestinal y beneficia a múltiples alteraciones y enfermedades. (EROSKI, 2015).

En la tabla N° 02, se muestra los análisis de 02 fuentes bibliográficas, siendo uno del Centro Nacional de Alimentación y Nutrición, del Ministerio de Salud, y la otra de Eroski.

TABLA N° 02. Composición de la Piña en 100 gramos de porción comestible.

| Componentes | Resultados (1) | Resultados (2) |
|----------------|----------------|----------------|
| Energía (kcal) | 38.00 | 46.00 |
| Agua | 89.30 | -- |
| Proteína | 0.40 | -- |
| Grasa | 0.20 | -- |
| Carbohidratos | 9.80 | 11.50 |
| Fibra | 0.50 | 1.20 |
| Cenizas | 0.30 | -- |
| Calcio | 10.00 | -- |
| Fosforo | 5.00 | -- |
| Hierro | 0.40 | -- |
| Potasio | -- | 250.00 |
| Magnesio | -- | 14.00 |
| Yodo | -- | 30.00 |
| Retinol | 7.00 | -- |
| Tiamina | 0.03 | -- |
| Riboflavina | 0.20 | -- |
| Niacina | 0.76 | .. |
| Ácido fólico | -- | 11.00 |
| Vitamina C. | -- | 20.00 |

Fuente: (1): M.S.C.E. N.A.N/I.N.S (2009)

(2): EROSKI. (2015)

Sus propiedades en beneficio para la salud. Contiene una enzima, denominada la bromelina, similar a las enzimas digestivas, que ayuda en la digestión de las proteínas, por lo que resulta apto para facilitar la digestión o como introducirlo en ensaladas para preparar al estómago de los posibles excesos en la alimentación. Por su aporte de vitamina C, están recomendadas para quienes tienen el riesgo de sufrir carencia de dicha

vitamina, personas que no toleran los cítricos, el pimiento u otros vegetales, que son fuente casi exclusivamente de vitamina C en nuestra alimentación o para personas cuyas necesidades nutritivas están aumentadas, periodos de crecimiento, embarazo y lactancia materna. Como antioxidante, esta vitamina contribuye a reducir el riesgo de múltiples enfermedades como las cardiovasculares, las degenerativas e incluso el cáncer. (CAO, 2000)

La fibra que contiene previene tanto como mejora el estreñimiento, contribuye a reducir el colesterol en la sangre y al buen control de la glucemia en la persona que padece de diabetes. Contribuye a ejercer un efecto saciante, lo que conlleva al beneficio de las personas que llevan a cabo una dieta para perder peso. Además por su contenido en carbohidratos, riqueza de potasio y bajo aporte de sodio, la piña resulta muy factible y recomendable para las personas que sufren de hipertensión arterial o afecciones de vasos sanguíneos y corazón. (CAO, 2000)

2.1.5 Variedades de piña.

Según la Corporación PROEXANT, a nivel mundial existen muchas variedades de piña, pero las más comercializadas del género *Ananás Comosus* son:

Grupo Cayena: Cayena Lisa, Euville, Hilo, Rothfield

Grupo Queen: Golden Sweet o MD2, Pernambuco, Back Ripplay

Grupo Spanish: Española, Blood, Puerto Rico

Tipo peroleras: Milagreña (Ecuatoriana)

La Cayena Liza es la variedad que se cultiva más a nivel del mundo, y dentro de ésta los más importantes son la Champaca F-153 y la Hawaiana. Sin embargo, a raíz de la introducción de la piña Golden Sweet (MD2) por parte de la multinacional Dole, los países están reemplazando sus cultivos por esta variedad que ha tenido mayor éxito en el mercado mundial y la han convertido en la segunda variedad con mayor producción mundial.

La demanda de la Cayena es debido a su alto contenido ácido y de azúcares, lo que la convierte en un insumo óptimo para la producción de enlatados. Mientras que la Golden Sweet, debido a su sabor “extra dulce” y su coloración dorada, es preferida para su consumo en fresco. (UTEPI, 2006)

Existen muchas variedades de piña, pero muy pocas son comercializadas de manera importante. A continuación se nombran las más utilizadas a nivel mundial: Española de Singapur, Selacia Verde, Reina, Española Roja, Perola y Perolera. (DE LA CRUZ, 2002).

2.1.6 Principales Variedades en el Perú.

En el Perú, la piña ocupa el puesto número 10, lugar de mucha importancia económica entre los frutales cultivados en el país. A nivel nacional existen 14,289 ha sembradas con una producción de 14,840.7 kg/ ha (FAO, 2008). En la selva esta la mayor área cultivada, principalmente Loreto, Pucallpa, Junín (Valle de Chanchamayo y Satipo), San Martín, Cuzco, Huánuco y Amazonas. En la costa las plantaciones de piña se encuentra mayormente en la zona norte: La Libertad, Piura, Lambayeque y Tumbes. La variedad trujillana se utiliza mayormente para la fabricación de conservas y las piñas de la selva (Chanchamayo, Bagua, Satipo y Pucallpa) se destinan casi íntegramente su producción al consumo en estado fresco con excepción de Chanchamayo, donde existe una planta para el procesamiento de enlatados. (BELLO, 1991)

En la selva central, las variedades comerciales que se cultivan son: Cayena Lisa, Golden, Hawaiana, Samba Chanchamayo y Lagarto; todas son destinadas para el mercado regional y nacional.

- **Cambray (Milagreña):** Es la variedad Perolera, originaria del Brasil y hasta hace poco la más cultivada, su fruto se destina exclusivamente al consumo local como fruta fresca, de tamaño grande, tiene forma cónica y ojos

profundos, corazón grueso. Pulpa blanca, es poco adecuada para la industrialización.

- **Cayena Liza:** Posiblemente originaria de Guayana, con un área de cultivo en permanente expansión dada sus posibilidades para la industrialización y la exportación como fruta fresca, de tamaño medio, la fruta tiene forma cilíndrica, ojos superficiales, corazón delgado y pulpa amarilla.
- **Champaka F-153:** Es una variedad parecido a la Cayena Lisa, es la más resistente a enfermedades que las demás, es una variedad con gran aceptación y alta demanda en los mercados de exportación.
- **MD2:** Es una variedad reciente, que por su presentación, aroma, etc. Está catalogada como una fruta de lujo en los mercados externos. (FIGUEROA, 1970)

2.2 ANTIOXIDANTES.

2.2.1 Definición.

Antioxidante es toda sustancia que hallándose presente a bajas concentraciones, con respecto a las de un sustrato oxidable (biomolécula), retarda o previene la oxidación de dicho sustrato (HALLIWELL, 1999).

Tienen diferentes mecanismos de acción; unos impiden la formación de los Radical Libre y/o especies reactivas (sistema de prevención), otros inhiben la acción de los Radical Libres (sistema barredor) y otros favorecen la reparación y la reconstitución de las estructuras biológicas dañadas (sistema de reparación). Cada antioxidante posee una afinidad hacia un determinado Radical Libre o hacia varios, puede actuar en los diferentes procesos de la secuencia oxidativa y tener más de un mecanismo de acción. (BARBOSA, 2008)

Los seres vivos, tienen un complejo sistema, para hacer frente a esta oxidación, y en especial, los vegetales, por estar expuestos a la radiación

solar. Ciertas sustancias, llamadas antioxidantes, desde vitaminas hasta polifenoles, bloquean la acción de estos radicales libres. (ALMAJANO 2009)

Los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas; se encuentran en muchas plantas, por sus propiedades antioxidantes merecen mayor atención. (HERNÁNDEZ, 1999)

Los fenoles tienen la capacidad de atrapar especies reactivas de oxígeno debido a su propiedad como donadores de electrones. La efectividad de su capacidad antioxidante va a depender de su estabilidad en los diferentes sistemas, así como también del número y localización de grupos hidroxilo, que rompen el ciclo de generación de nuevos radicales libres, anticipando las reacciones de terminación actuando como un antirradicalarios. (ROBLES, 2007)

Constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios de los vegetales, donde tienen diversas funciones fisiológicas. Intervienen en el crecimiento y reproducción de las plantas y en los procesos defensivos, (patógenos, depredadores, incluso radiación ultravioleta)

Los compuestos fenólicos comprenden desde moléculas simples como los ácidos benzoicos hasta polímeros complejos como las ligninas. Los compuestos fenólicos están presentes en todo el reino vegetal y sus cantidades y tipos varían en función de la especie, variedad y parte del vegetal (frutas, semillas, hojas) considerado horas de exposición solar, grado de maduración, condiciones de cultivo, etc. (MUÑOZ, 2007)

La principal justificación para el uso de un antioxidante es para extender la vida útil de los productos alimenticios, reducir los desechos y las pérdidas nutricionales al inhibir y retrasar la oxidación. Sin embargo, los

antioxidantes no pueden mejorar la calidad de un producto alimenticio ya oxidado. (SHERWIN, 1978; COPPEN, 1983)

Estos engloba un vasto grupo de fitoquímicos, que presentan en su estructura un anillo aromático con por lo menos un hidroxilo (Rice -Evans, 1996; Wang *et al*, 1996) y que, por poseer esta configuración, actúan como agentes reductores capaces de interrumpir la reacción de oxidación por dos maneras: por la donación de electrones o átomos de hidrogeno a los radicales libres, convirtiéndolos en productos estables, o por su complejación con metales presentes en el medio. (SAUTÉ - GARCÍA *et al.*, 1997; VILLANO *et al.*, 2007)

2.3 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.

2.3.1 Actividad Antioxidante en frutas.

Es una estimación fiable y global de la capacidad antioxidante de un alimento, además de ser un parámetro interesante para valorar la calidad dietética del producto en cuestión. (ACEVEDO, 2004)

La actividad antioxidante de los distintos grupos de compuestos depende de la estructura individual y del número de oxidrilos sustituyentes, así como del peso molecular. (PALADINO, 2008)

La evaluación de los componentes nutricionales de un producto alimenticio no es suficiente para entender y evaluar los efectos del mismo en el organismo. También es necesario considerar una serie de microcomponentes (fitonutrientes), conocidos previamente como componentes no - nutricionales o secundarios, los cuales incluyen a los compuestos antioxidantes. Las sustancias fitoquímicas son productos orgánicos constituyentes de alimentos de origen vegetal (frutas y hortalizas y alimentos derivados de ellas), que no son nutrientes y que pueden proporcionar al alimento unas propiedades fisiológicas que van más allá de

las nutricionales propiamente dichas; como sustancias químicas (*polifenoles*). (RIVAS, 2002)

TABLA N° 03. Fuentes de antioxidantes en los alimentos.

| Antioxidantes | Alimentos | |
|----------------------|---|---|
| Vitamina E | Fuentes más importantes | Girasol, frijol de soya, nuez, maní, aceites vegetales, germen de trigo, germen de maíz, almendras. |
| | Otras fuentes Significativas | Pescado, Papas, pimentón, aguacate, apio, repollo, frutas, pollo. |
| Vitamina C | Frutas | Limón, lima, naranja, guayaba, mango, piña, fresa, papaya, mora. |
| | Verduras | Lechuga, tomate, espinacas, perejil, hojas de rábano, repollo, coliflor, brócoli, pimentón. |
| Carotenoides | Betacaroteno | Verduras, frutas amarillas, anaranjado, verduras verde oscuro. |
| | Alfacaroteno | Zanahoria |
| | Licopeno | Tomate |
| | Luteína y zexantina | Verduras de hoja verde oscuro, brócoli |
| | Beta criptoxantina | Frutas cítricas |
| Selenio | Carnes, pescados, mariscos, cereales, ajo, champiñones, espárragos, pipas de girasol. | |
| Zinc | Carnes, embutidos, paté, hígado, moluscos y crustáceos, almendras, avellanas, nueces, huevos, leche y derivados lácteos, cereales y legumbres. | |
| Hierro | Melocotones y albaricoques secos, sésamo, legumbres, cereales, germen de trigo, hígado, ternera, almendras, avellanas, mejillones y almejas | |
| Magnesio | Frutos secos, especialmente almendras, avellanas, piñones, cacahuets, nueces y anacardos; en cereales y legumbres | |
| Coenzima Q10 | Carne, vísceras, pescado (fundamentalmente azul), sardinas, cacao, aceite de soja y cacahuets. | |
| Glutación | Frutas y Verduras | |
| Cobre | Cerdo, pato, salmón, carne de órganos como hígado, corazón, riñón, gelatina de carne, nueces, semillas, leche chocolateada, leche de soja y también los frutos del mar. | |

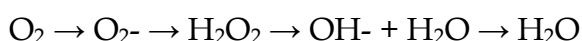
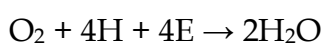
Fuente: CAROLINA (2009)

2.4 RADICALES LIBRES.

Los radicales libres, son aquellas moléculas que en su estructura atómica contienen un electrón desapareado o impar en el orbital externo. Esta configuración espacial les hace muy inestable, extraordinariamente reactivos y de vida efímera, con una enorme capacidad para combinarse con la mayoría de las biomoléculas celulares (carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y derivados de cada uno de ellos) provocando un gran daño en ellas y en las membranas celulares. (FINKEL, 2000)

Los Radicales Libres cumplen numerosas funciones útiles en el organismo (de hecho, nuestro propio cuerpo los fabrica en cantidades moderadas para luchar, por ejemplo, contra las infecciones), pero en cantidades excesivas tienen el potencial de dañar nuestras células y el material genético allí contenido.

La mayor parte del oxígeno utilizado por el organismo humano durante la respiración celular es reducido a agua por acción del complejo citocromo-oxidasa de la cadena respiratoria mitocondrial. En este proceso de fosforilación oxidativa el oxígeno actúa como aceptor final de electrones, adquiriendo un total de 4 electrones con producción de 2 moléculas de agua. La reacción global es la siguiente:



Una consecuencia de este proceso es la producción de intermediarios parcialmente reducidos que son los RL llamados Especies Reactivas de Oxígeno (ERO):

O_2^- = radical superóxido, H_2O_2 = peróxido de hidrógeno, OH^- = radical hidróxilo.

El radical hidróxilo es con diferencia el más dañino de los tres, con una vida media muy corta y una alta reactividad. El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) no es estrictamente un RL, pero por su capacidad de generar el OH^- en

presencia de metales como el hierro bivalente (reacción de Fenton) se le considera como tal. Otros RL son los llamados Especies Reactivas de Oxígeno y Nitrógeno (ERON): NO = óxido nítrico y NO₂ = dióxido de nitrógeno. Ambos tienen su origen en el óxido nítrico, RL necesario a bajas concentraciones como neurotransmisor en el sistema nervioso central y periférico, y por su acción vasodilatadora, que hace que sea considerado un protector vascular, pero tóxico a altas concentraciones. (FINKEL, 2000).

2.5 LA VITAMINA "C" O ÁCIDO ASCÓRBICO.

Es una vitamina hidrosoluble, que es derivada del metabolismo de la glucosa. Actúa como agente reductor y es necesaria para la síntesis de las fibras de colágeno a través del proceso de hidroxilación de la prolina y de la lisina. También protege al organismo del daño producido por los radicales libres. (VALDÉS, 2006)

Antioxidante hidrosoluble, muy importante que actúa potenciando el efecto de los demás antioxidantes tales como la vitamina E y el selenio. No es sintetizado por el organismo, por lo que debe ser proporcionado por la dieta. Sus principales funciones son neutralizar el oxígeno (O₂), capturar radicales hidróxilos y aniones superóxido y regenerar la forma oxidada de vitamina E una vez que ha reaccionado con un Radical Libre. Actúa de forma sinérgica con la vitamina E, y se ha comprobado que se absorbe mejor si se encuentra en una formulación que contenga vitamina E. Algunos estudios muestran una clara participación de la vitamina C como antioxidante sobre el endotelio vascular evitando la oxidación del óxido nítrico, potenciando su actividad y aumentando su síntesis. (SHEKELLE, 2003)

La vitamina C o ácido ascórbico, es una cetona cíclica que corresponde a la forma enólica de la 3 - ceto - 1 - gulofuranolactona; contiene un enol entre los carbonos 2 y 3 que la hace un agente ácido y muy reductor, por lo que se oxida fácilmente. (BADUI, 2006)

2.6 COMPUESTOS POLIFENOLICOS.

Los compuestos fenólicos o polifenoles, son las sustancias que poseen un anillo aromático, unidos a uno o más grupos hidroxilo, incluyendo derivados funcionales (ésteres, glucósidos, etc.) (MACHEIX *et al.* 1990)

En la tabla N° 04, se muestra la concentración relativa en tejidos vegetales de estos compuestos fenólicos presentes en la naturaleza, se conocen aproximadamente 4000, siendo los flavonoides el grupo más importante. Un número considerable de fenoles monocíclicos simples, quinonas fenólicas, lignanos, xantonas se incluyen en esta clasificación, al igual que materiales poliméricos tales como ligninas, lignanos, melaninas y taninos. (LEE, 1992)

TABLA N° 04. Concentración relativa de compuestos fenólicos en tejidos vegetales.

| Tejido | Concentraciones relativas |
|---------|--|
| 1 Fruto | ácidos cinámicos > catequinas ≡ leucoantocianinas (flavan-3,4-dioles) > flavonoles |
| Hojas | flavonoles ≡ ácidos cinámicos > catequinas ≡ leucoantocianinas |
| Tronco | catequinas ≡ eucoantocianinas > flavanoles > ácidos cinámicos |
| Corteza | Al igual que en el tronco pero en altas concentraciones |

Fuente: ROBARDS *et al.* (1999)

Se pueden clasificar estructuralmente estos compuestos de acuerdo al Cuadro 3, la mayoría de los cuales se pueden encontrar en las frutas, siendo estos una excelente fuente de polifenoles mayor a las verduras (MACHEIX *et al.* 1990), siendo la mejor fuente algunas bebidas como el vino tinto, café y té (SCALBERT y WILLIAMSON, 2000).

TABLA N° 05. Principales clases de Compuestos Fenólicos en frutos.

| Átomos de Carbono | Estructura Básica | Clase | Ejemplo | Fruto (Ejemplo) |
|-------------------|--|--|---------------------------------------|---|
| 7 | C ₆ -C ₁ : | Ácido hidroxibenzoico | p- hidroxibenzoico | Fresa |
| 9 | C ₆ -C ₃ | Ácido hidroxicinámico Cumarinas | Cafeico Scopolina | Manzana Cítricos |
| 10 | C ₆ -C ₄ | Nafloquinonas | Juqlona | Nuez |
| 13 | C ₆ -C ₁ -C ₆ | Xantonas | Mangiferina | Mango |
| 14 | C ₆ -C ₂ -C ₆ | Estilbenos | Resveratrol | Uva |
| 15 | C ₆ -C ₃ -C ₆ | Flavonoides Isoflavonoides Ligninas Taninos | quercetina, cianidina daidzeina | Cereza Frijol de soya Frutos con hueso. |

Fuente: MACHEIX *et al.* (1990)

2.6.1 Actividad Biológica de los Compuestos Fenólicos.

Es el origen de funciones biológicas tales como la antimutagénica, anticancerígena y el antienviejecimiento. Los flavonoides, en particular, tienen una amplia gama de efectos biológicos, incluyendo actividad antibacteriana, antiviral, antiinflamatoria, antialérgica, antioxidante, antitrombótica y vasodilatadora. Un aumento en la ingesta de antioxidantes fenólicos naturales nos conlleva a una reducción de las enfermedades coronarias. Las dietas ricas en compuestos fenólicos se asocian con mayor expectativa de vida. (PALADINO, 2007).

2.6.2 Actividad Antioxidante de los Fenoles en los Alimentos.

Los taninos también son una fuente importante de antioxidantes. Debido a la presencia ubicua en los alimentos de origen vegetal, las personas consumen compuestos fenólicos a diario. El rango que consumen es de 25 mg a 1 gr por día dependiendo del tipo de dieta (frutas, vegetales, granos, té, especias). En dosis muy altas, más de un 5% contenido en los alimentos o más de 100 mg/diarios, puede resultar tóxico, ya que pueden provocar alguna alteración digestiva, como dolor de estómago, diarrea, falta de apetito, sangre en la orina, etc. (SAMANIEGO, 2007; TORREZ, 2012.)

Los extractos crudos de frutas, hierbas, verduras, cereales y otros materiales vegetales ricos en fenoles están generando interés en la industria de los

alimentos debido a que retardan la degradación oxidativa de los lípidos, y por lo tanto mejoran la calidad y el valor nutricional de los alimentos. La importancia de los constituyentes antioxidantes de los materiales vegetales en el mantenimiento de la salud y la protección contra la enfermedad coronaria y el cáncer aumenta el interés de los elaboradores de alimentos y de los consumidores. (TORREZ, 2012).

2.6.3 Clasificación de los Compuestos Fenólicos.

Su clasificación está basada sobre la distinción entre compuestos no flavonoides y flavonoides. Estos últimos tienen esqueleto en C₆-C₃-C₆. Los polifenoles incluyen también a los derivados (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc.) que resultan de las sustituciones de la estructura base. (FLANZY, 2003; RAMÍREZ, 2004).

2.6.3.1 Los Compuestos no Flavonoides.

Abarca a los ácidos fenoles, divididos en ácidos benzoicos y ácidos cinámicos, portadores de una cadena lateral insaturada, pero también a otros derivados fenólicos como los estilbenos. (FLANZY, 2003)

Los fenoles libres y los ácidos fenoles se consideran en un mismo grupo, ya que generalmente se identifican simultáneamente durante el análisis de las plantas. La estructura básica de los ácidos fenólicos es un anillo aromático con un grupo carboxilo. Los ácidos de la serie benzoica, tales como el gálico, el vainillínico, el p-hidroxibenzoico son abundantes en las espermatofitas y los helechos. (CASTILLO, 2007).

2.6.3.2 Flavonoides.

Estos compuestos fueron descubiertos por el premio Nobel Szent-György, quien en 1930 aisló de la cáscara del limón una sustancia, la citrina, que regulaba la permeabilidad de los capilares. Los flavonoides se denominaron en un principio vitamina P (por permeabilidad) y también vitamina C₂

(porque se comprobó que algunos flavonoides tenían propiedades similares a la vitamina C) (SINGLETON, 1981).

Sin embargo, el hecho de que los flavonoides fueran vitaminas no pudo ser confirmado, y ambas denominaciones se abandonaron alrededor de 1950. Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante. (HAVSTEEN, 1983 Y PERES, 1994)

2.6.3.2.1 Determinación de Flavonoides.

La identificación, cuantificación y extracción de los flavonoides ha despertado un gran interés debido a que se ha encontrado que poseen propiedades benéficas para la salud del ser humano, tales como actividades anticancerígenas, antiinflamatorias, antivirales, antialérgicas, protección contra enfermedades del corazón y propiedades antioxidantes ya que retardan los cambios oxidativos en los alimentos, mejorando así la calidad y el valor nutricional de estos. Todos estos efectos en la salud atraen la atención de incorporar éstos compuestos a los productos alimenticios. (KANG *et al.*, 2006).

Una manera sencilla de cuantificar la concentración de flavonoides en especies vegetales se basa en el método espectrofotométrico UV-Vis. Indicado por (SOTERO y GARCÍA, 2009) donde se realiza lecturas a 474nm del extracto etanólico previamente diluido usando agua destilada como blanco, usando quercetina como patrón de flavonoides y expresando los resultados en mg de quercetina/100gdemuestra.

2.6.3.2.2 Acción Antioxidante de los Flavonoides.

La capacidad de los polifenoles vegetales para actuar como antioxidantes en los sistemas biológicos fue ya reconocida en los años treinta; sin embargo, el mecanismo antioxidante fue ignorado en gran medida hasta hace poco tiempo. El creciente interés en los flavonoides se debe a la apreciación de su amplia actividad farmacológica. Pueden unirse a los polímeros biológicos, tales como enzimas, transportadores de minerales tales como Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , catalizar el transporte de electrones, y depurar radicales libres. Debido a este hecho se han descrito efectos protectores en patologías tales como diabetes mellitus, cáncer, cardiopatías, infecciones víricas, úlcera estomacal y duodenal e inflamaciones. Otras actividades que merecen ser destacadas son sus acciones antivirales y antialérgicas, así como sus propiedades antitrombótica y antiinflamatorias. (GRYGLEWKI, *et al.*, 1987).

Los criterios químicos para establecer la capacidad antioxidante de los flavonoides, son:

- Presencia de estructura O-dihidroxi en el anillo B; que confiere una mayor estabilidad a la forma radical y participa en la deslocalización de los electrones.
- Doble ligadura, en conjunción con la función 4- oxo del anillo C.
- Grupos 3- y 5-OH con función 4-oxo en los anillos A y C necesarios para ejercer el máximo potencial antioxidante.

La capacidad antioxidante de los flavonoides depende, entre otros factores, de su capacidad de eliminar el hierro, y de hecho se ha comprobado recientemente en células U937 tratadas con el agente tóxico terbutilhidroperóxido que aun a muy bajas concentraciones son capaces de evitar la rotura y la oxidación del ADN y que una parte importante de su potente acción protectora está relacionada directamente con su lipofilidad. (SESTILI, *et al.*, 2002)

2.6.3.2.3 Estructura de Flavonoide.

Se conocen como diez clases de flavonoides, todos contienen quince átomos de carbono en su núcleo básico y están arreglados bajo un sistema C₆-C₃-C₆, en el cual dos anillos aromáticos llamados A y B están unidos por una unidad de tres carbonos que pueden o no formar un tercer anillo, que en casi de existir es llamado anillo C.

Los flavonoides se encuentran generalmente en mezclas como agliconas y/o glucósidos; en muchos casos, debido a la complejidad de la mezclas es más frecuente el estudio de estos compuestos bajo la forma de agliconas para lo cual los extractos deben hidrolizarse previamente. (LOCK, 1997)

Para su estudio sistemático los más de 4000 flavonoides naturales se han clasificado en varias clases de acuerdo con las variantes estructurales que presenta la cadena central (Figura 06). De acuerdo con esto los flavonoides se clasifican en varios grupos: Chalconas, flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles, antocianidinas, catequinas, epicatequinas, auronas, isoflavonoides, pterocarpanos, rotenoides, etc. (MARTÍNEZ, 2005).

2.6.3.3 Determinación de Antocianinas.

Las antocianinas (del griego *anthos* = flor; *kyanos* = azul oscuro) son flavonoides (tipo flavanos) comúnmente encontrado en la naturaleza, más tarde se descubrió que no solo el color azul, sino también el púrpura, violeta y magenta, y que todos los tonos de rojo, rosado, escarlata, que aparecen en muchas flores, frutos y algunas hojas y raíces de plantas, se deben a pigmentos químicamente similares a los antocianinas.



Las antocianinas como pigmentos naturales inocuos tienen considerable potencial en la industria alimentaria; pero a diferencia de los pigmentos rojos sintéticos rojos sintéticos que se utilizan actualmente, las antocianinas no son estables especialmente en soluciones neutras y alcalinas, con

cambios en el procesamiento y almacenaje de la materia prima con pérdidas de color, oscurecimiento del producto y formación de precipitados.

Son sensibles a las variaciones de pH, a pH 3 el pigmento está presente como sales de flavilo de color rojo, a pH 8 es color violeta y a pH 11 es de color azul. Las antocianinas juegan un rol importante en la producción de vinos, siendo la “enocianina” responsable del color que se utilizan para intensificar el color de los vinos y en colorantes de alimentos como jugos, jamones y licores.

Durante el proceso de alimentos, los productos son puestos en condiciones drásticas (alta temperatura, cambios de pH, presencia de luz) y las antocianinas son destruidas. Las altas temperaturas incrementan la presencia de azúcares, pH, ácido ascórbico y otros aditivos, afectando grandemente el factor de destrucción y las antocianinas se degradan en forma exponencial, formándose las chalconas y productos incoloros y después degradados a colores marrones.

Se conoce también degradación por enzimas y ataque no enzimáticos, polimerización. La presencia de otros compuestos puede contribuir a la estabilidad de las antocianinas. La actividad biológica está asociado como un potente antioxidante, previene la oxidación del ácido ascórbico con la captura de los radicales libres; tiene actividad inhibitoria de las enzimas oxidativas de esa manera reduce el riesgo de cáncer y enfermedades del corazón.

2.6.3.4 Determinación de Taninos.

El método de la vainillina se usa ampliamente para la cuantificación de proantocianidinas (taninos condensados) en frutas y granos. El ensayo de la vainillina es específico para flavan-3-ol, dihidrochalconas y proantocianinas, las cuales tienen un enlace simple en la posición 2,3 y poseen grupos hidroxilos en la posición *meta* del anillo B. La catequina es un flavan-3-ol monomérico frecuentemente usado como un estándar en el

ensayo de la vainillina. El metanol, disolvente usado para el ensayo de la vainillina, puede afectar la cinética de reacción de la catequina y taninos con vainillina diferencialmente.

El ensayo de la vainillina en metanol es más sensible para los taninos poliméricos que para los flavan-3-oles monoméricos. Este ensayo es generalmente reconocido como un método útil para la detección y cuantificación de taninos condensados en plantas debido a su sensibilidad, especificidad y simplicidad. Sin embargo, debe ser considerada la posibilidad de interferencias con dihidrochalconas y antocianinas. El método se puede usar para cuantificar taninos condensados en un intervalo de 5-500 μg con precisión y exactitud mayores a 1 μg cuando la concentración óptima de reactantes y disolventes son elegidos (SHAHIDI y NACZK, 1995).

Este método se basa en la condensación de la vainillina con proantocianinas en una solución acidificada. La vainillina protonada, un electrófilo débil, reacciona con el anillo del flavonoide en la posición 6 u 8. El producto de esta reacción se deshidrata fácilmente para dar un color rosa ligero a un intenso rojo cereza. La estabilidad del color del aducto vainillina-tanino puede incrementarse cuando la luz es excluida y la temperatura de reacción es controlada y entonces se obtienen resultados exactos y reproducibles (SHAHIDI y NACZK, 1995).

2.6.3.4.1 Actividad Antioxidante de Taninos.

Recordemos que los flavonoides y proantocianidoles antioxidantes del zumo de uva y el vino son considerados por muchos autores, los principales responsables del efecto preventivo sobre enfermedades cardiovasculares que podría conducir un consumo moderado del vino tinto. (BRUNETON, 2001)

2.6.3.4.2 Estructura y estabilidad.

Las antocianinas están consideradas en el grupo de los flavonoides, ya que poseen el esqueleto característico C₆-C₃-C₆ y el mismo origen biosintético, pero absorben fuertemente en la región visible del espectro.

Hay 6 antocianinas comunes, siendo la cianidina la más común y responsable del color magenta, los colores rojo-naranja se deben a la pelargonina, mientras que los colores violeta y azul a la delfinidina.

Los azúcares presentes comúnmente está la glucosa, galactosa, ramnosa, xilosa y arabinosa y como disacáridos a la rutinosa, sambubiosa, soforosa, gentiobiosa y latirosa. Las antocianinas aciladas están siendo descritas con mayor frecuencia en los últimos años, como sustituyentes alifáticos, aromáticos y azúcares; siendo los principales grupos acilantes los ácidos fenólicos como *p*-cumárico, cafeico, ferúlico o sinápico y algunas veces los ácidos acéticos, malónico y *p*-hidroxibenzoico preferentemente en el azúcar del C-3.(OJHA *et al.*, 2012).

2.7 ENSAYO DEL DPPH (1,1-DIFENIL-2-PICRIL-HIDRAZILO) (BERSET *et al.*, 1994)

Este método fue propuesto por Blois (1958). El procedimiento original para el ensayo DPPH ha sido adoptado por muchos laboratorios y a pesar de que existen modificaciones a conveniencia, una revisión detallada de la 16 literatura ha revelado que la mayoría de los estudios están basados en un tiempo de reacción de 20-30 min en vez de un tiempo de reacción total de 120 minutos requerido para alcanzar el estado estacionario y completar la reacción redox (OJHA *et al.*, 2012).

2.7.1 Los resultados del ensayo DPPH se han presentado de diferentes maneras.

La mayoría de los estudios expresan los resultados como el valor de la concentración máxima de la media inhibitoria (IC₅₀), definido como la

cantidad de antioxidante necesario para disminuir la concentración inicial de DPPH al 50%. Este valor se calcula graficando el porcentaje de inhibición contra la concentración del extracto. Para extractos de plantas o compuestos puros el valor IC₅₀ cambia de acuerdo a la concentración final del DPPH● usado (DENG *et al.*, 2011).

El ensayo DPPH tiene algunas desventajas que limitan su aplicación, entre estas se encuentran:

- La diferencia en el mecanismo de reacción que normalmente ocurre entre antioxidante y radicales peroxilo.
- DPPH: es un radical del nitrógeno de larga vida, lo cual no guarda similitud con los radicales peroxilo altamente reactivos y transitorios involucrados en la peroxidación lipídica. Muchos antioxidantes que reaccionan rápidamente con radicales peroxilo, reaccionan lentamente o son inertes al DPPH. Esto se evidencia en el tiempo necesario para determinar el IC₅₀ que van en un rango de 1.15 min (Ácido ascórbico) a 103 min (Rutina).
- La reacción cinética entre el DPPH: y los antioxidantes no es lineal con la concentración de DPPH, por lo cual es arbitrario medir la capacidad antioxidante usando IC₅₀.
- La reacción de DPPH: con eugenol fue reversible, lo que podría resultar en falsas lecturas (bajas) para la capacidad antioxidante de muestras que contengan eugenol y otros fenoles que guarden un tipo de estructura similar.

2.8 PARÁMETROS DE MEDICIÓN.

2.8.1 La Transmitancia (T).

Es la relación entre la intensidad de radiación transmitido por una muestra (I) y la intensidad de radiación que incide sobre la muestra (I₀), medidos ambos en la misma posición del espectro y con la misma rendija, $T = I / I_0$. Se supone que el haz es de radiación paralela y que incide sobre las superficies planas y paralelas de la muestra, formando ángulos rectos. (MANFRED, 1999)

2.8.2 La Absorbancia (A).

Es el logaritmo en base diez del recíproco de la transmitancia (T), en el que el disolvente puro es el material de referencia; esto es, $A = \log_{10} 1/T = -\log_{10} T$. Las interacciones electromagnéticas con la materia provocan la absorbancia o emisión de energía EMR a través de la transición de los electrones entre niveles cuánticos o discretos de energía, vibraciones de enlaces, rotaciones moleculares y transición de electrones entre orbitales de átomos y moléculas. (MANFRED, 1999)

La espectrofotometría de absorción de infrarrojos es adecuada para análisis orgánicos, pues los enlaces en alquenos, ésteres, alcoholes y otros grupos funcionales tienen fuerzas muy diferentes y absorben la radiación de infrarrojos en una gran variedad de frecuencias o energías. Esta absorción se refleja en el espectrógrafo en forma de picos. No se deben tomar medidas de absorbancias muy bajas o muy altas puesto que disminuye la exactitud del método. La absorbancia es adimensional y generalmente se presenta con mínimo tres decimales, algunos instrumentos permiten obtenerla con cuatro decimales. (MANFRED, 1999)

2.8.3 Longitud de Onda.

La distancia entre dos puntos consecutivos de una onda que tienen el mismo estado de vibración. La longitud de onda representa un concepto fundamental en la resolución de cualquier tipo de movimiento ondulatorio, y puede variar de valores muy grandes por ejemplo, cientos de metros para radio ondas largas a valores muy pequeños por ejemplo, de millonésimas de millón (10^{-12}) para los rayos gamma. Las crestas y los valles son aquellos lugares en los que el movimiento transversal es máximo. La longitud de onda es la distancia entre dos compresiones o enrarecimientos consecutivos. (MANFRED, 1999)

Longitud de onda: Se escoge mediante el registro y/o la observación de la curva espectral o espectro de la sustancia que indicará si es adecuado

tomar la longitud de onda de máxima absorción u otra banda característica de la sustancia como longitud de onda para realizar las medidas, la longitud de onda escogida se conoce como longitud de onda analítica. (MANFRED, 1999)

2.8.4 Índice de Absorbancia.

Es el cociente de dividir la absorbancia (A) entre el producto de la concentración de la sustancia (c), expresada en gramos por litro, y la longitud de la trayectoria de la energía luminosa (b) expresada en centímetros. En otro medio distinto al vacío la velocidad de propagación es menor y la relación de la velocidad de propagación en el vacío a la velocidad en cualquier otro medio, v_i , es lo que se conoce como *índice de refracción*:

$n_i = c/v_i$ (MANFRED, 1999).

2.8.5 Curva Espectral.

Curva espectral de una sustancia química indica las características de absorción de dicha sustancia con relación a la longitud de onda. En muchas ocasiones la curva espectral se presenta como Absorbancia vs longitud de onda y el espectro se denomina espectro de absorción, o en función de la transmitancia, denominándose el espectro, espectro de transmisión. (MANFRED, 1999)

Resulta de la retención de cantidades discretas de energía radiante por la capa de material interpuesta en la trayectoria de la radiación, aunque la energía absorbida corresponde a una misma longitud de onda se observa una banda de absorción y no líneas, así la curva del espectro está constituida por las lecturas que realiza el aparato para reproducir un gráfico en función de una longitud de onda específica, con el fin de apreciar los trazos que capta el espectrofotómetro. Así La determinación cuantitativa de una especie, con base en observaciones que dependan de la cantidad de radiación absorbida dependen de la comparación entre el valor de la

absorción de un patrón de referencia y la absorción de la muestra.
(MANFRED, 1999)

Los espectrofotómetros deben permitir efectuar la comparación entre la señal obtenida por una mezcla que no contiene el analito y otra que si lo tiene para poder tener la señal de esa diferencia. Así el registro de la variación del coeficiente de absorción molar, de la absorbancia A, o de la transmitancia T, en función de la longitud de onda origina el "espectro" o curva espectral de una sustancia química que indica las características de absorción de dicha sustancia con relación a la longitud de onda. Generalmente la curva espectral se presenta como "Absorbancia vs longitud de onda" y el espectro se denomina espectro de absorción, o en función de la transmitancia, denominándose espectro de transmisión.
(MANFRED, 1999)

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

El presente trabajo se efectuó en la Planta Piloto, en los Laboratorios de Análisis Físico, Químico y Microbiológico, de la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, en la ciudad de Iquitos, provincia de Maynas, región Loreto.

3.2 MATERIA PRIMA

La materia prima es la *Ananas comosus* Piña en las variedades de Cayena liza y Lorenza, que fueron obtenidos del Caserío "Ahucayo" ubicada en S 3°50'36.84" y W 73°6'49.71", en el río Amazonas, distrito de Fernando Loes, Provincia de Maynas, Departamento de Loreto.

3.3 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

Los materiales, equipos y reactivos utilizados en el trabajo de investigación se muestran en las siguientes tablas:

TABLA N° 06. Tabla de materiales.

| N° | MATERIALES |
|----|--------------------------------|
| 01 | Probetas 10 ml, 100ml y 250 ml |
| 02 | Pipeta graduada 50 ml y 1 ml |
| 03 | Micropipetas 10 - 100 µl |
| 04 | Matraz Erlenmeyer, Embudos |
| 05 | Fiolas 10 ml color ambar |
| 06 | Matraz Aforado 50 ml |
| 07 | Placas Petri |
| 08 | Vaso de precipitado |
| 09 | Gradillas |
| 10 | Papel manteca |
| 11 | Bolsas con seguro |

Fuente: Propia.

TABLA N° 07. Tabla de equipos.

| N° | EQUIPOS | DESCRIPCIÓN |
|----|------------------------------|--|
| 01 | Bomba al vacío | De marca Thermo Scientific, modelo 420-1902, de fabricación alemana. |
| 02 | Rotavapor | Marca Büchi, de fabricación alemana, consta de un condensador diagonal, controlador electrónico que a su vez tiene un motor que revela constantemente un esfuerzo de rotación de 5 a 240 rpm, el cual tiene alrededor un baño de agua digital que lleva a una temperatura de 100°C en incremento de 10°C. También consta de un balón de un litro que está protegida de una capa plástica donde se receptiona el solvente recuperado. |
| 03 | Espectrofotómetro | De marca Thermospectronic, modelo génesis 6, 100-240v, 50/60 Hz. Diseño óptico de doble detector con un ancho de banda espectral de 1.8 nm, utilizando como fuente luminosa el xenón, con longitud de rango de 190-1100nm ± 1.0 nm, la lectura es en absorbancia, transmitancia y concentración, con intervalos de medición de 0.1, 0.2, 1.0, 2.0, 5.0 nm y con portaceldas automático de 6 posiciones. |
| 04 | Thermohigrometro: | De marca Boeco, de fabricación Alemana, usado con la finalidad de medir la humedad relativa y la temperatura con gran precisión. |
| 05 | Balanza Analitica Max= 320 g | De marca Sartorius, modelo CP324S de fabricación Alemana. |
| 07 | Vortex | De marca MRC, modelo VM - 1000. |
| 08 | Campana Extractora | De marca C4, modelo CEX180 de fabricación Colombiana. |
| 09 | Estufa de aire caliente | De marca Hot air Oven, modelo DSO-500D de fabricación Taiwan. |

Fuente: Propia.

TABLA N° 08. Tabla de Reactivos.

| N° | Reactivo | % Pureza | Marca |
|-----|--------------------------|----------|----------|
| 01. | Hidróxido de sodio 0.1N | 97 | Spectrum |
| 02. | Fenolftaleína | - | - |
| 03. | Ácido sulfúrico | - | - |
| 04. | Ácido oxálico al 1.6% | - | - |
| 05. | Éter etílico | - | - |
| 06. | Sulfato de cobre | - | |
| 07. | Sulfato de potasio. | - | |
| 08. | Ácido bórico. | - | - |
| 09. | Soda caustica al 50%+ | - | - |
| 10. | Ácido clorhídrico 0.1N | 37 | Sigma |
| 11. | Indicador rojo de metilo | - | - |
| 12. | Acetato de sodio | 99 | Merck |
| 13. | Nitrato de aluminio | - | Spectrum |
| 14. | Ácido fórmico | 98-100 | Merck |
| 15. | Folin ciocalteu | - | Merck |
| 16. | Dpph | 93 | Merck |
| 17. | Metanol absoluto | £99.7 | Merck |
| 18. | Cloruro de potasio | 99.5 | Sigma |
| 19. | Vainillina | 99 | Sigma |
| 20 | butanol, | | |
| 21 | Etanol | | |

Fuente: Propia.

3.4 TIPO Y DISEÑO DE ESTUDIO

Para el análisis de estudio el método a emplearse es descriptivo experimental, se utilizó un diseño por conveniencia tanto para la pulpa como la cáscara:

F1= Tipo de extracción.

A = Etanol.

F2= Metabolito secundario.

1 = Fenoles totales.

2 = Antocianinas.

3 = Flavonoides.

4 = Taninos

Por lo tanto se tendrá lo siguiente:

4 x 1 = 4 tratamientos

4 x 3 = 12 experimentos por cada muestra (pulpa y cáscara)

3.5 DISEÑO MUESTRAL

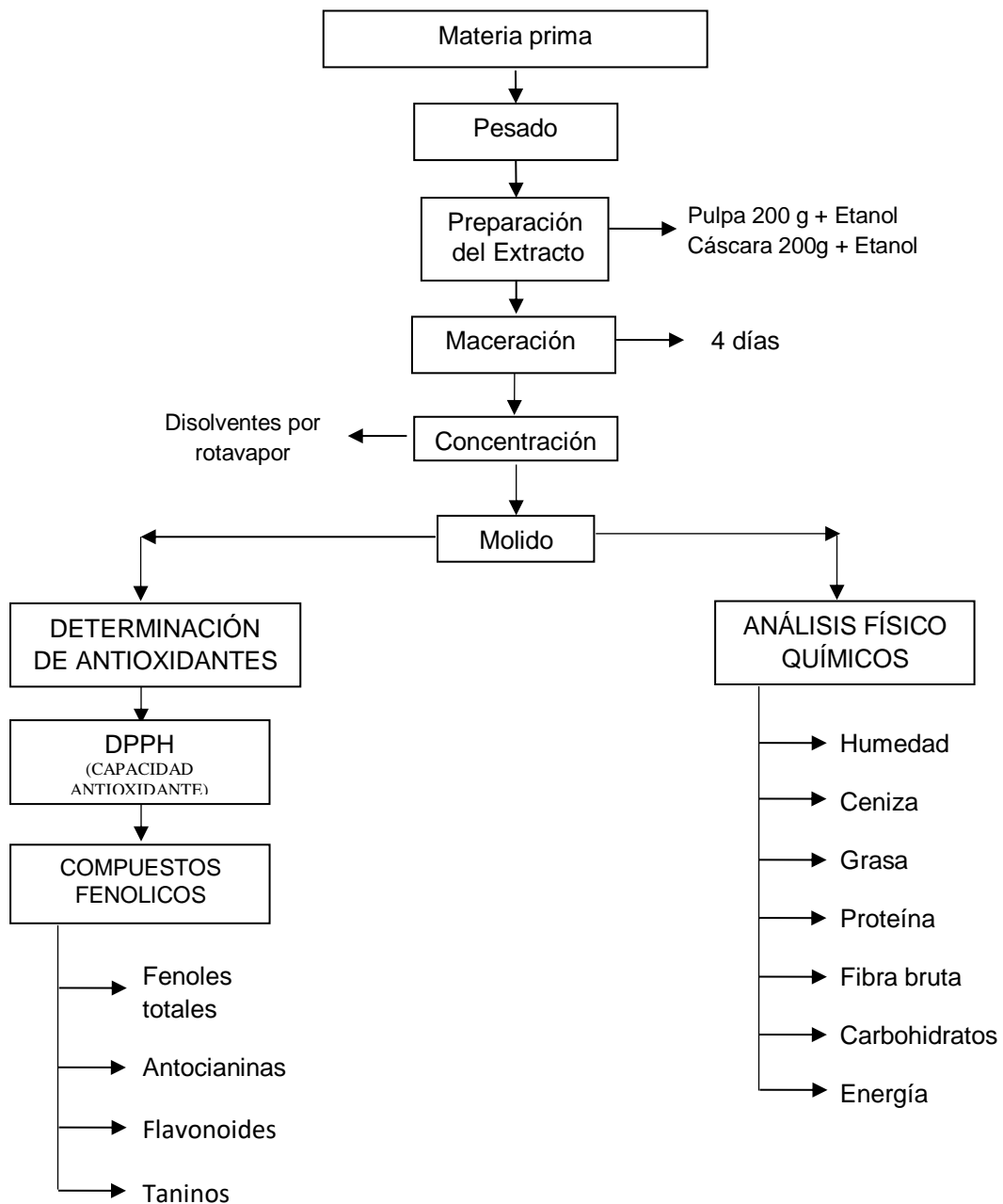
| TIPO DE EXTRACCION | METABOLITO SECUNDARIO | | | |
|--------------------|-----------------------|--------------|-------------|---------|
| | Fenoles totales | Antocianinas | Flavonoides | Taninos |
| ETANOL | 1 | 2 | 3 | 4 |

Fuente: ACOSTA Y DIAZ, 2015

3.6 PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS DE LA *Ananas comosus* (PIÑA) EN LAS VARIEDADES DE CAYENA LIZA Y LORENZA.

La Figura N° 01, muestra el flujograma para la obtención de los extractos de la pulpa y cáscara para después proceder a la determinación de la actividad antioxidante y los compuestos fenólicos:

- **Materia prima.** La materia prima es la *Ananas comosus* Piña en las variedades de Cayena lisa y Lorenza, que fueron obtenidos del Caserío "Ahucayo" ubicada en S 3°50'36.84" y W 73°6'49.71", en el río Amazonas, distrito de Fernando Loes, Provincia de Maynas, Departamento de Loreto.
- **Pesado.** Se realizó el pesado de ambas variedades (200g en pulpa) y (86g en cascara) para obtener datos exactos de rendimiento.
- **Preparación del extracto.** A las *Ananas comosus* (piña) en las variedades de cayena lisa y lorenza pulverizadas se le adiciono etanol absoluto (99.7°) con 1% ácido fórmico hasta enrazar en un recipiente de vidrio.
- **Maceración.** Se dejó macerar por 4 días protegido de luz, para evitar la descomposición de los antioxidantes presentes por acción radical de los electrones libres presentes en la luz.
- **Concentración.** El disolvente fue removido a 60°C, -700 mbar de presión reducida en un rotavapor a 60 rpm, se completó la eliminación del disolvente residual secado a temperatura ambiente y protegida de la luz.
- **Molido.** El extracto seco fue molido en un mortero con pilón obteniéndose 0.592g (cayena lisa cáscara), 5.1909g (Lorenza cáscara), 55.3224g (cayena lisa pulpa), 44.012g (Lorenza pulpa) en forma de polvo, que fue envasado en bolsas de aluminio trilaminado para evitar el contacto con la luz.
- **Determinación de antioxidantes y Análisis Físico químicos.** Posteriormente fue determinada la actividad antioxidante y la presencia de fenoles totales, antocianinas, flavonoides, taninos.



Fuente: ACOSTA Y DIAZ, 2015

FIGURA N° 01. Obtención del extractos de la pulpa y cascara de *Ananas comosus* (PIÑA) en las variedades de Cayena liza y Lorenza.

3.7 MÉTODOS.

3.7.1 Análisis Físico Químicos.

3.7.1.1 Determinación de Humedad. A.O.A.C.2014. Método 934.06.

Consistió en pesar en una balanza analítica un capsula de vidrio vacío, limpio y seco; luego se añadió 5 gramos de la muestra bien esparcida y se colocó en la estufa por 5 horas a una temperatura de 100 a 105 °C.

Al término de las 5 horas se retiró la capsula con la muestra de la estufa y se colocó en el desecador por 20 o 30 minutos y luego se pesó.

El resultado se expresó en porcentaje, calculado mediante la siguiente ecuación:

$$\% H = \frac{P_1 - P_2}{PM} \times 100$$

Donde:

P_1 = Peso del crisol con la muestra húmeda en gramos.

P_2 = Peso del crisol con la muestra seca en gramos.

PM = Peso de la muestra.

3.7.1.2 Determinación de Sólidos Totales. A.O.A.C. 2014. Método 920.151

Se determinó a partir de los resultados obtenidos en el porcentaje de humedad de la muestra en análisis, mediante la siguiente fórmula:

$$S. T. = 100 - \% H$$

Donde:

$\% H$ = Porcentaje de humedad obtenido

3.7.1.3 Determinación de Sólidos Solubles Totales. A.O.A.C. 2014. Método 932.14

En primer lugar se limpió y calibró el refractómetro con agua destilada, luego se colocó 1 o 2 gotas de muestra en análisis para determinar la cantidad de azúcar que contiene; expresada en grados Brix.

3.7.1.4 Determinación de Azúcares Reductores. A.O.A.C. 2014. Método 925.36

Se pesó aproximadamente 10 gramos de la muestra, y se colocó en un matraz de 250 ml, al cual se agregó 90 ml de agua destilada y se hizo hervir por 30 minutos agitando durante intervalos de 10, 15 y 20 minutos para luego ser filtrado; lo obtenido fue enrasado en una bureta.

En otro matraz se colocó 5 ml de Fehling A y 5 ml de Fehling B, al cual se agregó 40 ml de agua destilada. Luego se dejó hervir durante 4 minutos y se añadió 4 gotas de azul de metileno.

Se tituló en caliente hasta el cambio de color a rojo ladrillo.

La cantidad de azúcares reductores se obtuvo empleando la siguiente fórmula expresado en mg/litro:

$$\text{Azúcares Reductores} = \frac{10 \times f}{a}$$

Donde:

10 = Constante.

F = Factor (Glucosa: 0.4945, levulosa: 0.0537; maltosa: 0.4710).

a = Gasto de la disolución.

3.7.1.5 Determinación de Cenizas Totales. A.O.A.C. 2014. Método 940.26

Se utilizó el método de incineración en la mufla, el cual consiste en destruir la materia orgánica mediante la calcinación de la muestra, quedando como residuo el material mineral; la cantidad exacta se determina por diferencia de masa.

Se pesó en una balanza analítica un crisol de porcelana vacío al cual se agregó 5 gramos de la muestra, luego se colocó en la mufla por 6 horas a una temperatura de 550 - 600 °C.

Al término de las 5 horas retiro la muestra de la mufla y se dejó enfriar en el desecador por un espacio de 20 a 30 minutos, finalmente se pesó nuevamente.

El resultado se expresó en porcentaje, calculado mediante la siguiente ecuación:

$$\% C = \frac{P_2 - P_1}{PM} \times 100$$

Donde:

P_1 = Peso del crisol vacío.

P_2 = Peso del crisol con las cenizas.

PM = Peso de la muestra.

3.7.1.6 Determinación de Proteínas Totales. A.O.A.C. 2014. Método 920.152

Se utilizó el método Kjeldahl, que consiste en la destrucción de la materia orgánica con ácido sulfúrico en caliente y la titulación del amoníaco, comprende tres fases:

- **Digestión:** se pesó 0.25 de la muestra problema en papel aluminio, 2.5 de K_2SO_4 y 0.125 de $CuSO_4$, todo se colocó en tubos de digestión al cual se agregó 8 ml. de ácido sulfúrico concentrado. Se dejó hervir aproximadamente de 45 a 50 minutos.
- **Destilación:** Al producto obtenido en la digestión se agregó 100 o 150 ml de hidróxido de sodio al 8 % o la cantidad necesaria hasta que la mezcla tomara un color negro.

Al mismo tiempo en un balón se colocó 8 ml de ácido bórico al 4 % más 3 o 4 gotas de indicador rojo de metilo y azul de metileno, se dejó que transcurra la destilación hasta reunir aproximadamente 50 ml de destilado, cuyo contenido cambió de violeta a verde esmeralda a medida que se acumuló el amoníaco.

- **Titulación:** Se recogió aproximadamente 50 ml de la muestra destilada en un matraz, el cual fue titulado con ácido sulfúrico 0.025N hasta el cambio de color de verde esmeralda a violeta nuevamente.

Anotar el gasto de la titulación y aplicar las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{\text{Gasto} \times 0.014 \times 0.025\text{N}}{0.25} \times 100$$

$$\% \text{ P} = \% \text{ Nitrógeno} \times 6.25$$

Donde:

Gasto = Volumen gastado de H₂SO₄.

6.25 = Factor para proteínas en general.

3.7.1.7 Determinación de Acidez Titulable. A.O.A.C. 2014. Método 967.21

En un matraz de 250 ml se colocó 98 ml de agua destilada y 2 gramos de la muestra, al cual se añadió 4 - 5 gotas de fenolftaleína como indicador para el viraje.

Luego se tituló con hidróxido de sodio 0.1N hasta que se produzca el cambio de color a rosado insipiente.

El resultado se expresa en % de acidez cítrica mediante la siguiente formula:

$$\% \text{ Acidez Titulable} = \frac{\text{Gasto} \times 0.1\text{N} \times 0.6404 \times 100}{\text{Peso de la muestra}}$$

Donde:

0.1N = Normalidad del NAOH

Gasto = Volumen gastado de la titulación.

3.7.1.8 Determinación de pH. A.O.A.C.2014. Método 942.15

Se trabajó con un potenciómetro digital previamente calibrado con una solución buffer de pH adecuado para trabajar con la muestra en análisis. En un vaso de precipitado pequeño se coloca 5 gramos de la muestra, donde se introduce el electrodo del potenciómetro. La lectura se hace directamente en la pantalla.

3.7.1.9 Determinación de Fibra Cruda. A.O.A.C. 2014. Método 930.10

La fibra cruda es el residuo orgánico comestible e insoluble que queda después de que la muestra se ha desengrasado, se realiza mediante la eliminación de carbohidratos solubles por hidrolisis a compuestos más simples (azúcares), mediante la acción de los ácidos a álcalis débiles en caliente.

- **Primera digestión:** Se pesó de 1 a 2 gramos de muestra libre de grasa en un matraz, luego se dejó hervir durante 30 minutos con 200 ml de H₂SO₄ al 5%, filtrar y lavó con agua destilada hasta neutralizar la acidez.
- **Segunda digestión:** Añadir 200 ml de NaOH al 5% y se dejó hervir durante 30 minutos, luego se filtró y lavó con agua destilada caliente el residuo.

Luego se colocó en la estufa por espacio de 3 horas a una temperatura de 105 °C, al término se dejó enfriar y se pesó (P₁), finalmente colocar en la mufla por espacio de 3 horas a una temperatura de 105 °C al término se enfrió y se pesó (P₂).El resultado se expresó en porcentaje, calculado mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Fibra} = \frac{P_1 - P_2}{PM} \times 100$$

Donde:

P₁ = Peso de la muestra en gramos retirado de la estufa.

P₂ = Peso de la muestra en gramos retirado de la mufla.

PM = Peso de la muestra.

3.7.1.10 Determinación de Vitamina C. A.O.A.C. 2014. Método 966.16

Consistió en pesar 25 gramos de muestra y luego se agregó 75 ml de ácido metafosfórico al 3 %, se agitó por un tiempo de 20 a 30 minutos en el agitador eléctrico hasta que la solución extractora capte toda la vitamina C, de esta solución se tomó una alícuota de 5 ml, al cual se añadió 2.5 ml de acetona.

Se tituló con solución colorante 2.6 diclorofenol - indofenol - bicarbonato de sodio; el viraje debe estar entre rojo y rosado.

El resultado se expresó en mg/100 gramos de muestra, calculado por la siguiente formula:

$$\text{Vitamina C} = \frac{A \times f \times B \times 100}{C \times D}$$

Donde:

A = Gasto de la titulación

f = factor 0.167

B = Volumen del ácido metafosfórico (75 ml)

C = 25 gramos de muestra

D =5 ml de alícuota

3.7.2 Análisis Microbiológico.

3.7.2.1 Recuento de microorganismos *Coliformes / Escherichia coli* mediante Técnica Petrifilm AOAC Método Oficial 991.14.

➤ Preparación de la muestra:

- Preparar una dilución de la muestra de alimento 1:10. Pipetear la muestra en una probeta.
- Añadir el diluyente apropiado (agua de peptona). No usar tampones que contengan citrato de sodio o tiosulfato. No utilice buffer que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento.
- Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.

➤ **Siembra:**

- Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la lámina semitransparente superior.
- Con la pipeta perpendicular a la Placa Petrifilm coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.
- Cuidadosamente deslice la película hacia abajo evitando atrapar burbujas de aire. No deje caer la película superior.
- Con el lado plano hacia abajo coloque el dispersor o esparcidor sobre la película superior, como atrapando el inóculo.
- Presione suavemente el dispersor o esparcidor para distribuir el inóculo sobre el área circular. No gire, ni deslice el dispersor. Recuerde distribuir el inóculo antes de inocular una siguiente placa.
- Levante el dispersor o esparcidor. Espere por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y proceda a la incubación.

➤ **Incubación:**

- Incube (Coliformes= 24 horas x 35°C y E. coli= 48 horas x 35°C) la placa cara arriba en grupos de hasta 20 unidades de altura. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

➤ **Interpretación:**

- Las placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo lupa con luz. Referirse a la Guía de interpretación para leer los resultados.
- Las colonias pueden ser aisladas para identificación posterior. Levante el film superior y repicar la colonia del gel.

3.7.2.2 Recuento de microorganismos *Salmonella sp.* mediante Técnica Petrifilm AOAC Método Oficial 2003.09.

➤ **Suplemento para el Medio:**

- Pese asépticamente la cantidad apropiada del 3M™ Suplemento para Enriquecimiento de Salmonella.

➤ **Procedimiento de enriquecimiento:**

- Agregue de manera aséptica el 3M™ Suplemento para Enriquecimiento de Salmonella a la cantidad apropiada de 3M Enriquecimiento Base para Salmonella, preparado y esterilizado en la autoclave.
- Prepare la dilución del producto alimenticio. Pese o agregue con pipeta el producto alimenticio dentro de un contenedor estéril, tal como una bolsa para Homogenizador u otro contenedor.
- Agregue una cantidad apropiada de la combinación de 3M Enriquecimiento Base para Salmonella más el 3M Suplemento para Enriquecimiento de Salmonella a la bolsa o el contenedor de la muestra.
- Mezcle u homogenice la muestra según el procedimiento actual.
- Incube las muestras enriquecidas a $41,5^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ durante de 18 a 24 horas.

➤ **Procedimiento de hidratación:**

- Coloque la Placa 3M Petrifilm SALX sobre una superficie nivelada y plana. Con la pipeta perpendicular a la placa, coloque 2,0 mL de diluyente estéril sobre el centro de la película inferior.
- Deje caer suavemente la película superior sobre el diluyente para evitar atrapar burbujas de aire.
- Coloque el Difusor Plano 3M Petrifilm en el centro de la placa. Presione ligeramente el centro del difusor para distribuir el diluyente de manera uniforme. Distribuya el diluyente en toda el área de desarrollo de la Placa 3M Petrifilm SALX antes de que se forme el gel. No deslice el difusor a través de la película.

- Coloque la Placa 3M Petrifilm SALX en una superficie plana durante al menos 1 hora a temperatura ambiente (20–25 °C), protegida de la luz, para que se forme el gel.

➤ **Inoculación, Incubación e Interpretación de la Placa:**

- Para las muestras con niveles bajos de contaminación microbiológica, use un asa estéril de 10 µL y retire el volumen completo del asa. Utilice un asa suave (una que no tenga bordes dentados y que no esté deformada) para evitar que la superficie del gel se resquebraje.
- Realice una sola siembra por estriado, desde la parte superior hasta la parte inferior de la placa, para obtener colonias aisladas.
- Baje la película superior para cerrar la Placa 3M Petrifilm SALX. Asegúrese de que usa guantes (emplear las buenas prácticas de laboratorio para evitar contaminación cruzada o el contacto directo con la placa), aplicar un movimiento suave de presión constante sobre la película superior para retirar todas las burbujas de aire del área de inoculación.
- Incube las placas a $41,5^{\circ} \pm 1$ °C durante 24 ± 2 horas en posición horizontal con el lado coloreado hacia arriba en pilas de no más de 20 placas.
- En la película superior de la Placa 3M Petrifilm SALX, marque con círculos las colonias aisladas presuntivas positivas de Salmonella usando un marcador permanente de punta fina. Confirme bioquímicamente todos los resultados presuntivos positivos de Salmonella mediante el uso del Disco de Confirmación 3M Petrifilm SALX.

➤ **Confirmación Bioquímica:**

- Retire de su bolsa un Disco de Confirmación 3M Petrifilm SALX empacado individualmente y permita que llegue a temperatura ambiente. Abra el paquete para exponer la lengüeta del disco, júela y retire el disco. Levante la película superior (con las colonias presuntivas de Salmonella ya marcadas) de la Placa 3M Petrifilm SALX e inserte el disco sobre el gel en forma tal que se evite atrapar burbujas de aire. Cierre la placa.

- Asegúrese de que usa guantes y deslice suavemente sus dedos con un movimiento de barrido a una presión constante sobre la película superior para retirar todas las burbujas de aire del área de inoculación, y asegure un buen contacto entre el gel y el Disco de Confirmación 3M Petrifilm SALX.
- 18. Incube el sistema 3M Petrifilm Salmonella Express (placa y disco) a 41,5° ± 1 °C de 4 a 5 horas. Retire el sistema 3M Petrifilm Salmonella Express de la incubadora y proceda a leer los resultados. Mire solo las colonias marcadas con un círculo.

3.7.3 Determinación de Carotenos y Retinol en pulpa fresca de *Ananas comosus* en las Variedades de Cayena liza y Lorenza.

3.7.3.1 Determinación de β-carotenos utilizando el Espectrofotómetro (SOTERO Y GARCIA 2009)

- **Preparación del reactivo:** Alcohol n-butílico saturado. Medir 35 mL de alcohol n-butílico y colocar en un vaso de precipitado y luego añadir 15 mL de agua destilada.
- **Procedimiento:** Pesar 10 gramos de muestra en un matraz de vidrio de 300 mL y añadir 50 mL de alcohol n-butílico saturado con agua. Tápese y agítese durante 2 minutos y deje en reposo por espacio de 20 minutos. Filtre a través de un papel de filtro. Llénese una cubeta de 1 cc con el extracto de la muestra y la otra con el solvente. Léase la absorbancia a 450 nm, efectúe tres lecturas.
- **Calculo:**

$$\beta - \text{Carotenos mg/100g de muestra} = \frac{(A - B) \times 1.57}{W}$$

Donde:

A: lectura de la absorbancia de la muestra.

B: lectura de la absorbancia del solvente.

W: peso tomado de la muestra.

3.7.3.2 Determinación de Retinol (SOTERO Y GARCIA 2009)

- **Procedimiento:** Para la determinación del retinol, se procede igual que para la determinación del β -caroteno, con la única diferencia de que las lecturas de la absorbancia tienen que ser a una longitud de onda de 470 nm.
- **Calculo:**

$$\text{Retinol mg/100g de muestra} = \frac{(A - B) \times 10.90}{W}$$

Donde:

A: lectura de la absorbancia de la muestra.

B: lectura de la absorbancia del solvente.

W: peso tomado de la muestra.

3.7.4 Determinación de la Capacidad Antioxidante.

3.7.4.1 Evaluación de la Actividad Antioxidante por el método 2,2 - difenil - 1-picrilhidrazil (DPPH).

La determinación de Actividad Antioxidante (AA) fue siguiendo el método de (BRAND-WILLIAMS *et al*, 1995):

Preparación de la muestra: 50 g del extracto etanólico seco, se diluyo y aforo a 10 ml con metanol consiguiendo una concentración de 5mg/ml, constituyéndose la solución patrón, a partir de esta dilución se prepararon concentraciones a 0.5; 0.25; 0.1; 0.05 y 0.01 mg/ml, tomando alícuotas de 1ml (0.5 mg/ml); 0.5 ml (0.25 mg/ml); 0.2 ml (0.1 mg/ml);) 0.1 ml (0.05 mg/ml; 0.02 ml (0.01mg/ml) y aforando a 10 ml con metanol ,dejar reposar durante 30 minutos protegido de la luz.

Preparación de la solución de DPPH: Se preparó la solución stock de 1mMol de DPPH en metanol al 95%, a partir de la esta se preparó la solución de trabajo de 0.1 mMoles de DPPH (también usado como blanco). Se agregó a una cubeta de poliestireno de 1 ml 0.025 μ l de cada una de las diferentes concentraciones del extracto etanólico y se agregó 0.975 μ l de 0.1 mMol de

DPPH. Posteriormente fueron realizadas las lecturas de las absorbancias en el espectrofotómetro UV/Vis a una longitud de onda (λ) de 517 nm, leídas a intervalos de 30 segundos durante 5 minutos y realizadas por triplicado.

La inhibición del secuestro del radical DPPH por soluciones crecientes de los extractos, fue determinada por la expresión siguiente.

$$\text{inhibición de DPPH, \%} = [(\text{Ac} - \text{Am}) / \text{Ac}] \times 100$$

Dónde: **Ac**, es la absorbancia del control 0.1 mM de DPPH), y **Am**, es la absorbancia de la muestra (solución creciente de los extractos) en tiempo n.

3.7.4.2 Preparación Del Extracto Etanólico.

El extracto etanólico se reconstituyó con metanol absoluto al 50% acidificado al 1% con ácido fórmico, para las respectivas diluciones y los ensayos subsiguientes, en algunos casos se almaceno el extracto a 0° C.

3.7.4.3 Determinación de fenoles totales.

La metodología empleada fue de Singleton y Rossi (1965), modificada por Vela y Cuzcano (2015), para la cual se preparó una solución patrón de 0.1 mg/ml de ácido gálico. Se prepararon las diluciones para obtener la curva patrón (0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1 mg/ml).

A 200 μ l del extracto etanólico (p/v) reconstituido de la madera y hoja por triplicado, se le agregaron 1.5 ml de agua destilada, 100 μ l de reactivo de Folin-Ciocalteu, después de 5 minutos se agregaron 200 μ l de solución de carbonato de sodio al 20%, se dejó reposar por 30 minutos a temperatura ambiente protegido de la luz. El blanco se prepara simultáneamente del mismo modo pero sustituyendo la solución del extracto etanólico por metanol acidificado. Posteriormente se midió la absorbancia a $\lambda = 765$ nm.

La concentración de fenoles se calcula con base en la curva de calibración y se expresó como mg equivalentes de ácido gálico/ml.

3.7.4.4 Determinación de Antocianinas, por el método ph - diferencial.

La metodología empleada fue la de Sotero y García (2009): La antocianina experimenta una transformación reversible con los cambios de pH manifestado por un llamativo cambio en la absorbancia. La forma oxonium predomina a pH 1 y el hemiacetal a pH 4.5. El pH diferencial es un método basado en la presencia de pigmentos degradables polimerizados y de otros compuestos interferentes.

3.7.4.4.1 Procedimiento.

Se prepararon dos diluciones de las muestras, una con el Buffer de cloruro de potasio pH 1 y otra con el Buffer de acetato de sodio pH 4.5, llevándolas a un volumen de 3 ml, se esperó 15 minutos a que las diluciones se equilibraran y se realizó un barrido en el espectrofotómetro de 400 a $\lambda = 700$ nm, esperando una absorbancia de la muestra entre 0.1 y 1.2 y utilizando como blanco agua destilada.

Para la obtención de la concentración de antocianina se utiliza la fórmula de pH diferencial:

$$A = (A_{\lambda \text{ vis-máx.}} - A_{\lambda 700})_{\text{pH 1}} - (A_{\lambda \text{ vis-máx.}} - A_{\lambda 700})_{\text{pH 4.5}}$$

En donde $A_{\lambda \text{ vis-máx.}}$ es la lectura del pico más alto a pH 1 y pH 4.5, y $A_{\lambda 700}$, es la lectura a $\lambda = 700$ nm, tanto para pH 1 como pH 4.5 para calcular la concentración en la muestra original se sigue la siguiente formula:

$$\text{Antocianina monomérica (mg/100 g)} = (A * PM * FD * 100) / (\epsilon * L)$$

Donde:

A = absorbancia

PM = Peso molecular, 449.2 g/mol

FD = Factor de dilución

ϵ = Coeficiente de extinción molar, 26900 g/mol*cm

L = Longitud de la celda.

3.7.4.5 Determinación de Flavonoides.

La metodología empleada fue la de GUTIÉRREZ *et al.* (2000), Se le agrego 100 µl del extracto etanólico, 200 µl del acetato de potasio 1M, 200 µl de nitrato de aluminio al 10%, completar el volumen con metanol acidificado con ácido fórmico al 1%, dejar reposar 30 minutos en temperatura ambiente protegiendo de la luz; se realizó la lectura de la absorbancia a $\lambda=415$ nm y utilizando como blanco metanol acidificado con ácido fórmico al 1%.

Para realizar los cálculos del contenido de flavonoides totales, se utiliza el coeficiente de extinción molar de la quercetina como patrón ($\epsilon = 78,66$ g/mol*cm).

$$\text{Flavonoides totales (mg/ 100 g)} = (\text{Abs} * \text{FD} * 100) / (\epsilon * \text{W})$$

Abs = absorbancia

FD = Factor de dilución

ϵ = coeficiente de extinción molar

W = Peso de la muestra

En algunos casos la presencia de flavonoides es tan alta que se mide en g/100 g de muestra.

3.7.4.6 Determinación Taninos.

La metodología empleada fue la de Valls *et al* (2000), mezclar 1 ml del extracto con 5 ml de mezcla de vainillina (50 ml de 1 g de vainillina en 100 ml de metanol y 50 ml de ácido fórmico 8 % en MeOH). El blanco se prepara simultáneamente del mismo modo, pero sustituyendo el extracto por ácido fórmico 8 % en MeOH. Se efectúa la lectura de absorbancia a $\lambda=500$ nm, homogenizar y dejar en reposo 30 minutos protegidos de la luz. El calibrado se realiza con soluciones de (+)-catequina (20, 40, 60, 80, 100 µg/ml).

3.7.5 Análisis de los Datos.

Los espectrogramas y los datos obtenidos de los UV-Vis, fueron interpretados de acuerdo a la teoría de la actividad antioxidante, fenoles totales, antocianinas, flavonoides, tanino; los datos numéricos fueron procesados en la hoja de cálculo Excel 2013.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES.

4.1 ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS.

4.1.1 Análisis Físicoquímicos de *Ananas comosus* (piña) en las variedades de cayena liza y lorena.

TABLA N° 09. Comparación de Análisis Físicoquímicos de *Ananas comosus* Piña en las variedades de Cayena liza y Lorena.

| ANÁLISIS | RESULTADOS PULPA FRESCA | |
|----------------------------------|-------------------------|--------------|
| | PIÑA CAYENA LIZA | PIÑA LORENZA |
| Humedad | 88.50 % | 84.72 % |
| Cenizas Totales | 0.21 % | 0.22 % |
| Grasas | 0.20 % | 0.22 % |
| Proteínas Totales | 0.42 % | 0.43 % |
| Carbohidratos | 10.67 % | 14.41 % |
| Calorías | 46.16 kcal | 61.34 kcal |
| Fibras | 0.50 % | 0.5 % |
| Sólidos Totales | 11.50 % | 15.28 % |
| Sólidos Solubles | 11.00 ° Brix | 15.10 ° Brix |
| Vitamina C | 25.05 mg | 24.38 mg |
| Acidez Titulable (Ácido cítrico) | 0.35 % | 0.21 % |
| Azúcares Reductores | 0.723 mg/lt | 1.242 mg/lt |
| Ph | 5.50 | 3.67 |

Fuente: Propia.

Los resultados que se muestran en la tabla N° 09, están expresados en 100 gramos de muestra de cada materia prima analizada. Los resultados reportados fueron comparados con fuentes bibliográficas (ver Tabla N° 10), en los cuales se demuestran que las diferencias existentes son mínimas.

4.1.2 Comparación de resultados de Análisis Físicoquímicos.

TABLA N° 10. Comparación de Análisis Físicoquímicos con otros autores encontrados en *Ananas comosus* Piña.

| Análisis | MUESTRAS / AUTOR | | | |
|---------------------------|---|---|--|---|
| | Pulpa Fresca de <i>Ananas comosus</i> (piña) cayena liza. TAMANI Y CONTRERAS (2016) | Pulpa Fresca de <i>Ananas comosus</i> (piña) Lorenza. TAMANI Y CONTRERAS (2016) | Según la tabla de composición de alimentos (2010). Ministerio de salud. Piña parte comestible. | Según WEKAM 1990 Pulpa fresca de Cayena L. |
| Humedad | 88.50% | 84.72 % | 89.3% | 86.00 |
| Ceniza | 0.21% | 0.22% | 0.3 | 0.30 |
| Grasa | 0.20% | 0.22% | 0.2g | 0.20 |
| Proteína | 0.42% | 0.43% | 0.4g | 0.50 |
| Carbohidrato | 10.67% | 14.41% | 9.8g | 13.50 |
| Calorías | 46.16 kcal | 61.34 kcal | 38kcal | 218Kj (52.32 kcal) |
| Fibra | 0.50% | 0.50% | | 0.50 |
| Solidos totales | 11.50% | 15.28% | 1.4g | |
| Solidos solubles | 11.00 °brix | 15.10 °brix | 9.8g | |
| Vitamina C | 25.05 mg | 24.38mg | 19.90mg | 21mg |
| Acidez. T (ácido cítrico) | 0.35% | 0.21% | | |
| Azúcar reductores | 0.723% | 1.242% | | |
| Ph | 5.50 | 3.67 | | |

Fuente: Propia.

En la Tabla N° 10. Se muestra los análisis proximal del fruto de la *Ananas comosus* (Piña). Se utilizó la pulpa fresca y deshidratada de las 2 distintas variedades utilizadas, en tanto el contenido para fresca de cayena lisa de humedad fue el 88.50%, ceniza de 0.21%, grasa 0.20%, proteína 0.42%, carbohidrato de 10.67%, calorías 46.16kcal, fibra de 0.50%, solidos totales de 11.50%, solidos solubles 11.00°brix, vitamina C de 25.05 mg, acides T de 0.35% , azúcar reductores 0.723% y pH de 5.50 para la variedad de Lorenza tenemos humedad fue el 84.72%, ceniza de 0.22%, grasa 0.22%, proteína 0.43%, carbohidrato de 14.41%, calorías 61.34kcal, fibra de 0.50%, solidos

totales de 15.28%, sólidos solubles 15.10°brix, vitamina C de 24.38 mg, ácidos T de 0.21% , azúcar reductores 1.242% y pH de 3.67.

Según la tabla de composición de alimentos 2008, en la variedad de Cayena liza de cenizas fue 0.3%, en humedad fue 89.3%, grasa 0.2g, proteína 0.4g, carbohidratos de 9.8%, de calorías 38 kcal, sólidos totales de 1.4g, sólidos solubles y vitamina C de 19.90mg.

Según la WEKAM (1990), en la variedad de Cayena liza de cenizas fue 0.3%, en humedad fue 86%, grasa 0.2g, proteína 0.5g, carbohidratos de 13.50%, de calorías 218 kj, fibra de 0.50 y vitamina C de 21mg.

4.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS.

4.2.1 Análisis microbiológico de pulpa de *Ananas comosus* en la variedad de Cayena Liza.

TABLA N ° 11. Análisis microbiológicos de pulpa fresca de la variedad de Cayena Liza.

| Análisis | Resultados de pulpa | Referencia |
|------------------------------------|---|----------------------------------|
| | CAYENA LIZA.(01 f) | |
| <i>Escherichia coli</i> (NMP/G) | < 10 | 10 - 10 ² |
| <i>Salmonella sp</i> | Ausencia en 25 gramos de muestra | Ausencia en 25 gramos de muestra |

Fuente: Propia.

Los análisis microbiológicos realizados reportaron resultados que se encuentran dentro del rango de aceptación según NTS N° 071 - MINSA/DIGESA - V.01. Grupo: XIV. - Frutas y Hortalizas, Frutos secos y otros vegetales. XIV.2. Frutas y hortalizas frescas semi procesadas (lavadas, desinfectadas, peladas, cortadas y/o pre cocidas), refrigeradas y/o congeladas. Es decir la materia prima es un alimento inocuo. (Ver anexo N° 01)

4.2.2 Análisis de microbiológico de pulpa *Ananas comosus* piña en la variedad de Lorena.

TABLA N° 12. Análisis microbiológicos de pulpa fresca de la variedad de Lorena.

| Análisis | Resultados de pulpa | Referencia |
|------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | LORENZA.(02 G) | |
| <i>Escherichia coli</i> (NMP/G) | < 10 | 10 - 10 ² |
| <i>Salmonella sp</i> | Ausencia en 25 gramos de muestra | Ausencia en 25 gramos de muestra |

Fuente: Propia.

Los análisis microbiológicos realizados reportaron resultados que se encuentran dentro del rango de aceptación según NTS N° 071 - MINSA/DIGESA - V.01. Grupo: XIV. - Frutas y Hortalizas, Frutos secos y otros vegetales. XIV.2. Frutas y hortalizas frescas semi procesadas (lavadas, desinfectadas, peladas, cortadas y/o pre cocidas), refrigeradas y/o congeladas. Es decir la materia prima es un alimento inocuo. (Ver anexo N° 01).

4.3 DETERMINACIÓN DE β -CAROTENOS Y RETINOL EN PULPA FRESCA DE *Ananas comosus* en las VARIEDADES DE CAYENA LIZA Y LORENZA.

4.3.1 β - Carotenos en Cayena liza.

Se determinó por una absorbancia de 450nm en un intervalo de tiempo de 10 segundos con 6 repeticiones.

TABLA N° 13. Determinación β -Carotenos de pulpa fresca de cayena liza.

| Repeticiones | control | Muestra | β -caroteno |
|--------------|---------|----------|-------------------|
| 1 | 0.021 | 0.177 | 0.024492 |
| 2 | 0.021 | 0.177 | 0.024492 |
| 3 | 0.021 | 0.177 | 0.024492 |
| 4 | 0.021 | 0.177 | 0.024492 |
| 5 | 0.021 | 0.177 | 0.024492 |
| 6 | 0.02 | 0.177 | 0.024649 |
| | | PROMEDIO | 0.025 |

Fuente: Propia.

En la tabla 13, muestra las 6 repeticiones para la obtención de β -carotenos de la pulpa *Ananas comosus*, variedad de cayena liza, dando como un promedio total de 0.025mg/ml.

Según KUKOSKI (2005) , verifican la actividad antioxidante de pulpas congeladas de frutas consumidas en Brazil, haciendo uso de la inhibición de la peroxidación inducida y la inhibición de la co-oxidación del beta-caroteno, no encontrando relación alguna entre el contenido total de fenoles y la vitamina C con la capacidad antioxidante.

Según Ribeiro da Silva *et al.*, (2014) se encontró 42.86 mg β - caroteno/100 gr en base seca.

4.3.2 β - Carotenos en piña Lorenza.

Se determinó por una absorbancia de 450nm en un intervalo de tiempo de 10 segundos con 6 repeticiones. En la tabla 15 se muestra el promedio de las repeticiones.

TABLA N° 14. Determinación β - Carotenos de pulpa fresca de Lorenza.

| Repeticiones | control | Muestra | β -caroteno |
|-----------------|---------|----------|-------------------|
| 1 | 0.021 | 2.167 | 0.336922 |
| 2 | 0.021 | 2.169 | 0.337236 |
| 3 | 0.021 | 2.17 | 0.337393 |
| 4 | 0.021 | 2.172 | 0.337707 |
| 5 | 0.021 | 2.173 | 0.337864 |
| 6 | 0.02 | 2.171 | 0.337707 |
| Fuente: Propia. | | PROMEDIO | 0.34 |

En la tabla 14 muestra las 6 repeticiones para la obtención de β -carotenos de la pulpa *Ananas comosus*, variedad de lorenza, donde como un promedio total de 0.3374mg/ml. No se encontraron fuentes de β -carotenos de *Ananas comosus* Piña Lorenza en la bibliografía.

4.3.3 Determinación Retinol en *Ananas comosus* de Cayena liza.

Se determinó por una absorbancia de 470nm en un intervalo de tiempo de 10 segundos con 6 repeticiones. En la tabla 15 se muestra el promedio de las repeticiones la media es 0.130mg/ml.

TABLA N° 15. Determinación de Retinol en pulpa fresca de cayena liza.

| Repeticiones | Control | Muestra | RETINOL |
|-----------------|---------|----------|---------|
| 1 | 0.015 | 0.134 | 0.12971 |
| 2 | 0.015 | 0.134 | 0.12971 |
| 3 | 0.015 | 0.134 | 0.12971 |
| 4 | 0.015 | 0.134 | 0.12971 |
| 5 | 0.015 | 0.134 | 0.12971 |
| 6 | 0.015 | 0.134 | 0.12971 |
| Fuente: Propia. | | PROMEDIO | 0.13 |

Según la tabla de composición de los alimentos 2010 demuestra la cantidad 7.0/ μ g.

4.3.4 Retinol en *Ananas comosus* Piña en la variedad de Lorenza.

Se determinó por una absorbancia de 470nm en un intervalo de tiempo de 10 segundos con 6 repeticiones. En la tabla 16 se muestra el promedio de las repeticiones la media es 2.39mg.

TABLA N° 16. Determinación de Retinol en pulpa fresca de Lorenza.

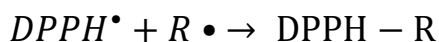
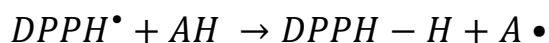
| Repeticiones | Control | Muestra | β -caroteno |
|-----------------|---------|----------|-------------------|
| 1 | 0.015 | 2.208 | 2.39037 |
| 2 | 0.015 | 2.207 | 2.38928 |
| 3 | 0.015 | 2.208 | 2.39037 |
| 4 | 0.015 | 2.208 | 2.39037 |
| 5 | 0.015 | 2.208 | 2.39037 |
| 6 | 0.015 | 2.207 | 2.38928 |
| Fuente: Propia. | | PROMEDIO | 2.39 |

No se encontró fuentes bibliográficas de retinol en *Ananas comosus* en la variedad de LORENZA.

4.4 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, FENOLES TOTALES, ANTOCIANINAS, FLAVONOIDEOS Y TANINOS DE LAS CÁSCARAS DE *Ananas comosus* (PIÑA) EN LAS VARIEDADES DE CAYENA LIZA Y LORENZA.

4.4.1 Determinación de la Actividad Antioxidantes de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) en la variedad de cayena liza con el método del DPPH.

Se acondicionó el espectrofotómetro UV-Vis para determinar la actividad antioxidante por el ensayo DPPH⁺, el rango de longitudes de onda varía entre los 515 y 540 nm; para la determinación se a midió a 517 nm donde presenta su máxima absorción. La solución de DPPH[•] se preparaba minutos antes de realizar el análisis ya que tiende a degradarse rápidamente por efectos de la luz y la temperatura (MOLYNEUX, 2004), La reducción del DPPH se muestra en la siguiente reacción: (BRAND *et al*, 1995, BRAND y BERSET, 1997).



En la Tabla N° 17, se muestran los promedios de las lecturas a diferentes concentraciones del extracto de la cáscara de la *Ananas comosus* de cayena liza y obtenidas de 30 lecturas por cada concentración (ver ANEXO N° 05), en la Tabla N° 18, se encuentra el porcentaje de inhibición con las debidas concentraciones donde la actividad antioxidante superior al 25% se encuentra en concentraciones de 5mg/ml es la mayor y la mínima es 0.5 mg/ml en los rangos estudiados.

TABLA N° 17. Promedios de las repeticiones y lecturas realizadas en la cascara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad cayena liza.

| Número de Lecturas | Promedio Solución DPPH (1mM) | Extracto etanolico cáscara <i>Ananas comosus</i> (muestra-seca) | | | |
|-----------------------------|------------------------------|---|-----------|-----------|------------|
| | | Concentraciones | | | |
| | | 5 mg/ml | 0.5 mg/ml | 0.1 mg/ml | 0.05 mg/ml |
| 1 | 0.312 | 0.023 | 0.113 | 0.079 | 0.062 |
| 2 | 0.311 | 0.022 | 0.113 | 0.079 | 0.062 |
| 3 | 0.311 | 0.022 | 0.113 | 0.078 | 0.062 |
| 4 | 0.311 | 0.021 | 0.113 | 0.079 | 0.062 |
| 5 | 0.311 | 0.021 | 0.112 | 0.079 | 0.062 |
| 6 | 0.311 | 0.020 | 0.113 | 0.078 | 0.062 |
| 7 | 0.311 | 0.020 | 0.112 | 0.078 | 0.062 |
| 8 | 0.310 | 0.019 | 0.112 | 0.079 | 0.062 |
| 9 | 0.311 | 0.019 | 0.113 | 0.078 | 0.082 |
| 10 | 0.311 | 0.018 | 0.112 | 0.078 | 0.082 |
| Promedio | 0.311 | 0.021 | 0.113 | 0.079 | 0.066 |
| Porcentaje de Inhibición, % | | 93.41 | 63.79 | 74.76 | 78.78 |

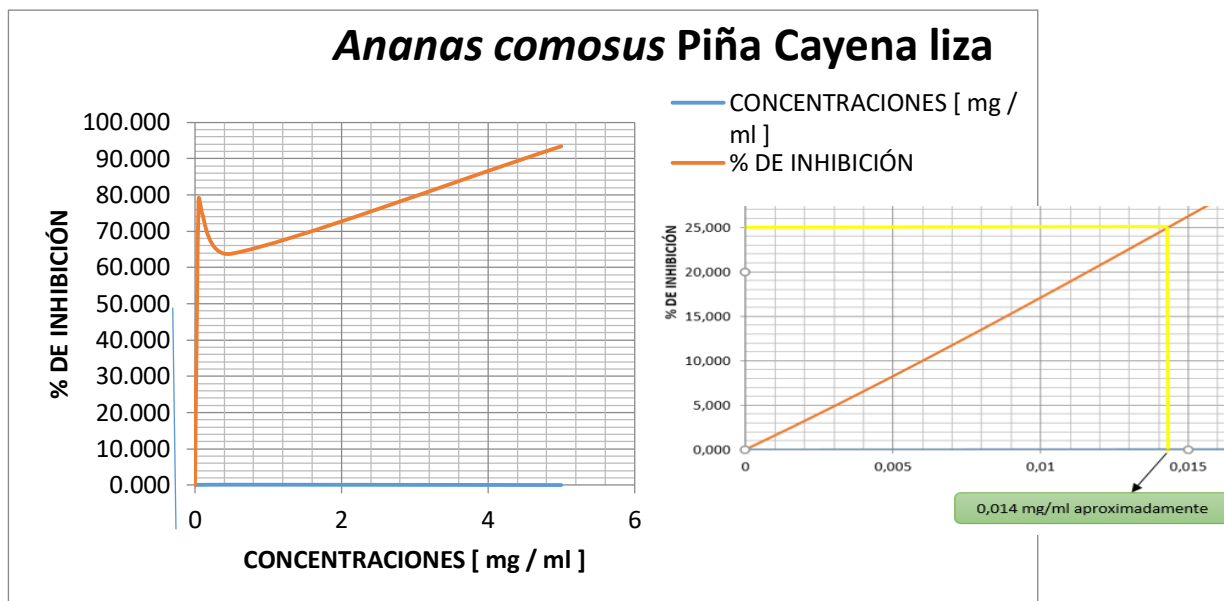
Fuente: Propia.

TABLA N° 18. Porcentaje de inhibición de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad cayena liza.

| MUESTRA cascara de cayena liza. | | | | |
|---------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| CONCENTRACIONES [mg / ml] | 5 | 0.5 | 0.1 | 0.05 |
| PROMEDIO DE [mg/ml] | 0.021 | 0.113 | 0.079 | 0.066 |
| % DE INHIBICIÓN | 93.41 | 63.79 | 74.76 | 78.78 |

Fuente: Propia.

En la Figura N° 02, se puede observar el comportamiento de la actividad antioxidante de la cáscara de la *Ananas comosus* Piña cayena liza en ella se puede determinar que la concentración inhibitoria mínima de 25% de actividad antioxidante es aproximadamente 0.014 mg/ml y que la actividad inhibitoria a medida que aumenta la concentración del extracto.



Fuente: Propia.

FIGURA N° 02. Porcentaje de inhibición a las diferentes concentraciones de la cascara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad cayena liza.

Según (TOVAR, 2013), determinó la actividad antioxidante de la parte aérea de 30 plantas que pertenecen a 8 familias en Colombia, en ella considera como extracto activo a aquel que muestra un porcentaje de actividad antioxidante superior al 25%; valor que se usó como referencia considerando que equivale a la mitad de la actividad antioxidante presentada por la hidroquinona, ya que utilizó a este como control positivo, similar al trabajos nuestro.

4.4.1.1 Evaluación de Fenoles Totales de la cáscara de la *Ananas Comosus* (Piña) - Variedad Cayena Liza.

Los fenoles totales de la cáscara de la *Ananas comosus*(piña) en las variedades de cayena liza fueron cuantificados mediante la ecuación de la curva patrón del ácido gálico obtenido en las mismas condiciones que se obtuvieron de las muestras tal como se observa en el ANEXO N° 17, donde la concentración del ácido gálico que va a concentraciones de 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 y 0.1 mg/ml ($y= 10.315x + 0.0221$; $R^2 = 0.9967$) y la absorbancia respectiva medida a una $\lambda = 765$ nm.

TABLA N° 19. Contenido de fenoles totales de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad cayena liza.

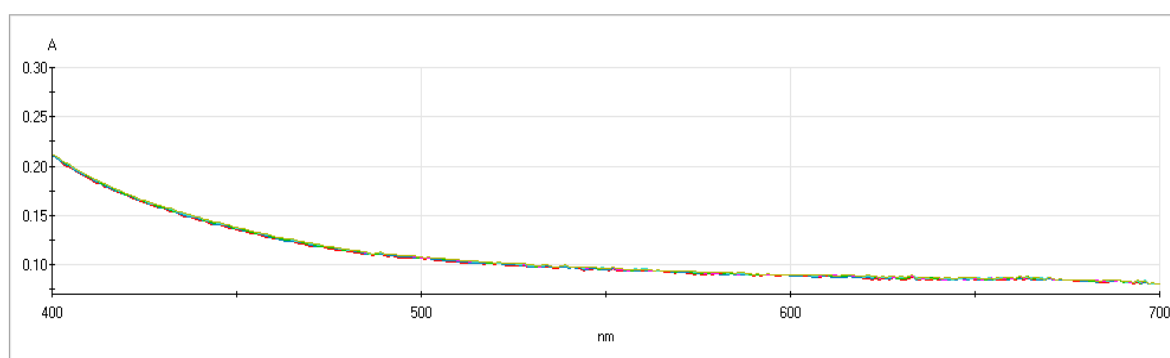
| Tipo de muestra | Código | repetición n | Masa alícuota de extracto seco | Masa alícuota de extracto seco | Volumen enrasado 1 | Volumen enrasado 2 | Alicuota en el tubo | lectura en el espectrofotómetro | concentración FT | concentración FT | concentración FT | concentración FT | MEDIA FT | DS | | |
|----------------------|--------|-----------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------------------|------------------|------------------|------------------|---------------------------------|------------------------------|-------------|------------------------------|-------|
| | | | (g) | (mg) | (ml) | alícuota (ml) | (ml) | factor de dilución | Abs.765 nm | mgGAE/mL | mgGAE | mgGAE/mg Alicuota extracto seco | mgGAE/100 g muestra original | | mgGAE/100 g muestra original | |
| | | | a | b = a*1000 | c | d | e | f=e/d | g | h | i = @ | j = i*c | k = j/a | j = h/a | | |
| CASCARA CAYENA UZA 1 | 1 | R1 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.599 | 0.056 | 1.119 | 11.186 | 8.175 | 8.185 | 0.008 |
| | | R2 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.6 | 0.056 | 1.121 | 11.205 | 8.189 | | |
| | | R3 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.6 | 0.056 | 1.121 | 11.205 | 8.189 | | |
| CASCARA CAYENA UZA 2 | 2 | R1 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.6 | 0.056 | 1.121 | 11.205 | 8.189 | 8.189 | - |
| | | R2 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.6 | 0.056 | 1.121 | 11.205 | 8.189 | | |
| | | R3 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.6 | 0.056 | 1.121 | 11.205 | 8.189 | | |
| TOTAL | | | | | | | | | | | | | 8.19 | 0.00 | | |

Fuente: Propia.

En la Tabla N° 19. Se muestra la forma de calcular y el contenido de fenoles totales en la cascara de la variedad cayena liza en ella se puede observar el valor 8.19 ± 0.00 mg EAG/100 g muestra original, siendo un promedio de las mediciones.

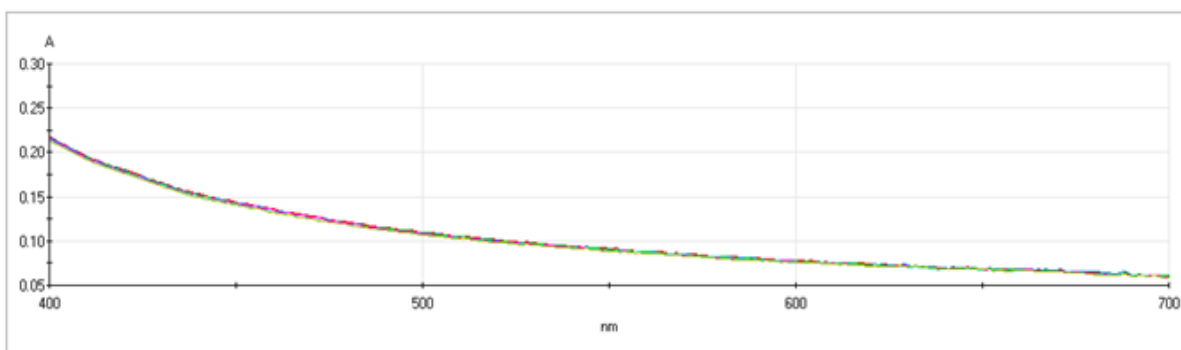
4.4.1.2 Evaluación de Antocianinas de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad cayena liza.

En las Figuras N° 03 y N° 04, se muestra el espectro de absorción a pH 4.5 y pH 1.0 del extracto etanólico de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña)-variedad cayena liza hecho por un barrido de absorción a λ de 400 a 700 nm, en ella se puede observar pequeñas absorciones en forma de picos que es característico de la presencia de antocianinas.



Fuente: Propia.

FIGURA N° 03. Absorción del extracto etanólico de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña)-variedad cayena liza de 400 a 700 nm a pH 4.5 para la determinación de antocianinas.



Fuente: Propia.

FIGURA N° 04. Absorción del extracto etanólico de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña)-variedad cayena liza de 400 a 700 nm a pH 1 para la determinación de antocianinas.

En la Tabla N° 20, se muestra las absorbancias de pequeños picos más representativos obtenidos entre 400 a 700 nm que aparecen en la Figuras 03 y 04 por triplicado de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad cayena liza a pH 1 y pH 4.5 y valores fijos a 700 nm a los pHs, la cantidad promedio obtenido de antocianinas aplicando la formula descrita en la metodología fue de 0.68 ± 0.35 mg de cianidina-3-glucosido/100 g de muestra original.

TABLA N° 20. Absorciones y cálculo de antocianinas presentes en la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad cayena liza.

| Tipo de muestra | Código | repetición | ABS = λ Vis-máx pH 1 (a) | ABS = λ Vis-máx nm pH 4.5 (b) | ABS = 700 nm pH 1 (c) | ABS = 700 nm pH 4.5 (d) | A = (a-c)-(b-d) | PM g/mol | FD | ϵ L/cm ² mol | L cm | Concentración de Antocianinas mgCianidina-3-glucosido/100 g muestra original | Media Antocianinas mgCianidina-3-glucosido/100 g muestra original | SD |
|---------------------|------------|------------|-------------------------------------|--|--------------------------|----------------------------|-----------------|-------------|-----|-------------------------------------|---------|---|--|--------|
| CASCARA CAYANA LIZA | extracto 1 | R1 | 0.1000 | 0.0960 | 0.058 | 0.084 | 0.0300 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | 0.4394 | 0.5956 | 0.4041 |
| | | R2 | 0.1340 | 0.0880 | 0.058 | 0.084 | 0.0720 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | 1.0545 | | |
| | | R3 | 0.0910 | 0.0970 | 0.058 | 0.084 | 0.0200 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | 0.2929 | | |
| CASCARA CAYANA LIZA | extracto 1 | R4 | 0.1110 | 0.0890 | 0.057 | 0.084 | 0.0490 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | 0.7176 | 0.7713 | 0.3038 |
| | | R5 | 0.1370 | 0.0890 | 0.057 | 0.084 | 0.0750 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | 1.0984 | | |
| | | R6 | 0.0970 | 0.0890 | 0.058 | 0.084 | 0.0340 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | 0.4979 | | |
| TOTAL | | | | | | | | | | | | 0.68 | 0.35 | |

Fuente: Propia.

Las antocianinas, son bioactivos importantes que tienen funciones y acciones biológicas, que incluye actividad oxidante, que promueve la prevención de enfermedades crónico-degenerativas (HOGAN *et al.*, 2010).

4.4.1.3 Evaluación de Flavonoides de la cáscara de la *Ananas comosus* (Piña) - Variedad Cayena Liza.

Los flavonoides presentes en la cáscara de la especie de la *Ananas comosus* (piña) - variedad cayena liza fue determinado por absorción a $\lambda=415$ nm y se consignan los datos en la Tabla N° 21, obteniendo un valor negativo de flavonoides en muestra original.

TABLA N° 21. Determinación de flavonoides de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad cayena liza.

| Tipo de muestra | Código | repetición | ABSORBANCIA | PM | FD | ϵ | L | Concentración de Flavonoides | Media Flavonoides | SD |
|----------------------|------------|------------|-------------|---------|-------|------------|--------|-------------------------------------|-------------------------------------|----------|
| | | | | g/mol | | l/cm*mol | cm | g quercetina/100 g muestra original | g quercetina/100 g muestra original | |
| CASCARA CAYA LIZA | extracto 1 | R1 | -0.027 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 - | 0.08 | 0.08 | - |
| | | R2 | -0.027 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 - | 0.08 | | |
| | | R3 | -0.027 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 - | 0.08 | | |
| CASCARA CAYA LIZA | extracto 2 | R4 | -0.027 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 - | 0.08 | 0.08 | - |
| | | R5 | -0.027 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 - | 0.08 | | |
| | | R6 | -0.027 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 - | 0.08 | | |
| TOTAL | | | | | | | | | 0 | 0 |

Fuente: Propia.

Los flavonoides ejercen su efecto antioxidante por neutralización de todo tipo de radicales por oxidación incluyendo peróxidos y radicales hidroxilos por quelación. La potente actividad antioxidante de flavonoides, su habilidad para capturar radicales hidroxilos puede ser la función más importante de los flavonoides y ser la verdadera razón de la acción en el cuerpo. (MERFOT *et al.*, 1996)

4.4.1.4 Evaluación de Taninos de la cáscara de la *Ananas Comosus* (Piña) - Variedad Cayena Liza.

Los taninos condensados, fueron cuantificados mediante la ecuación de la curva estándar de taninos obtenido en las mismas condiciones que se obtuvieron de las muestras tal como se observa en el ANEXO N° 18, donde las concentraciones de 20, 40, 60, 80, 100 $\mu\text{g/ml}$ ($y = 0.01063x + 0.00961$; $R^2 = 0.9964$) y la absorbancia respectiva medida a una $\lambda = 500$ nm, esta curva fue empleada para la determinación de taninos de la cáscara.

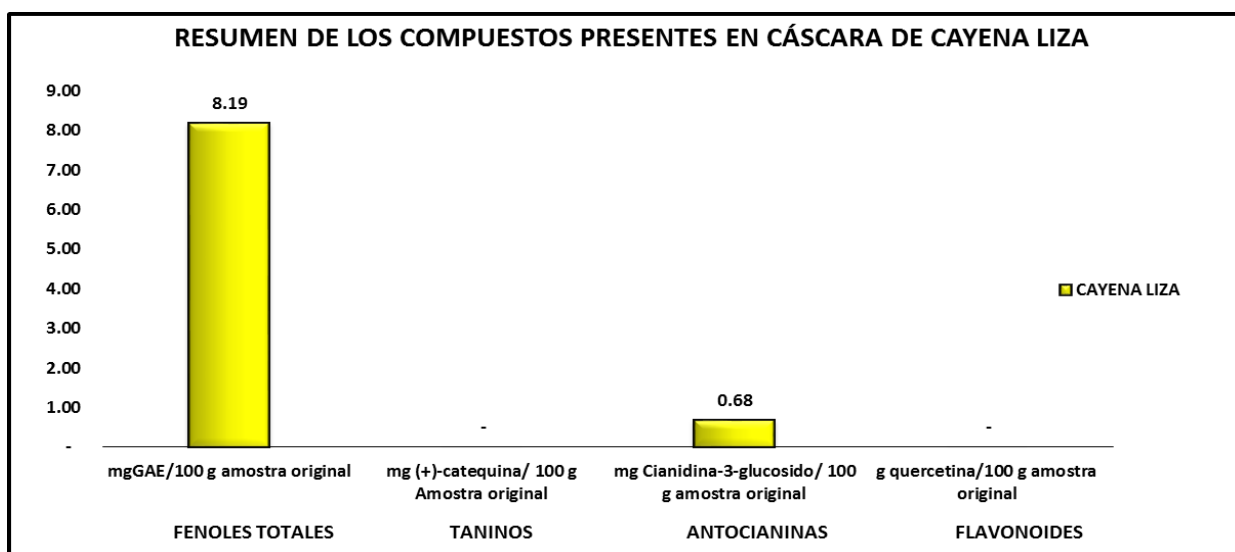
TABLA N° 22. Contenido de taninos de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad cayena liza.

| Tipo de muestra | Código | repetición | Masa | Masa | Volumen Acertado 1 | Alicuota en el tubo | lectura en el Equipo | concentración taninos | concentración taninos | concentración taninos | concentración taninos | concentración taninos | MEDIA concentración taninos | DS |
|-----------------------|--------|------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|--|---|---|----------|
| | | | Alicuota del extrato seco (g) | Alicuota del extrato seco (mg) | | (mL) | Abs.500 nm | µg (+)Catequina/mL | mg (+)-Catequina/mL | mg (+)-Catequina | mg (+)-catequina/g alicuota extrato seco | mg (+)-catequina/100 g Amostra original | mg (+)-catequina/100 g Amostra original | |
| | | | a | b = a*1000 | c | e | f | g = @ | g = @ | h = g* c | i = h / b | j = h/a | | |
| CASCARA CAYA LIZA | 1 | R1 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | 0.002 | 0.716 | 0.001 | 0.014 | 0.143 | 0.105 | 0.105 | - |
| | | R2 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | 0.002 | 0.716 | 0.001 | 0.014 | 0.143 | 0.105 | | |
| | | R3 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | 0.002 | 0.716 | 0.001 | 0.014 | 0.143 | 0.105 | | |
| CASCARA CAYANA LIZA 2 | 2 | R1 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | 0.003 | 0.622 | 0.001 | 0.012 | 0.124 | 0.091 | 0.100 | 0.008 |
| | | R2 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | 0.002 | 0.716 | 0.001 | 0.014 | 0.143 | 0.105 | | |
| | | R3 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | 0.002 | 0.716 | 0.001 | 0.014 | 0.143 | 0.105 | | |
| TOTAL | | | | | | | | | | | | | 0 | 0 |

Fuente: Propia.

La determinación de la presencia de taninos se muestra en el Tabla N° 22 no hay presencia de taninos de muestra original.

4.4.1.5 Resumen de Compuestos Fenólicos en cáscara de *Ananas comosus* piña en la variedad de cayena liza.



Fuente: Propia.

FIGURA N° 05. Resumen de Compuestos fenólicos en cáscara de *Ananas comosus* piña en la variedad de cayena liza.

En la figura N° 05 se muestra la cantidad mayor de fenoles totales con 8.19 mgGAE/100 g de muestra original seguidamente de antocianinas de 0.68mg Cianidina-3-glucosido/100 g muestra original y no hay presencia de flavonoides y taninos.

4.4.2 Determinación de la Actividad Antioxidantes de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) en la variedad de lorenza.

En la Tabla N° 23 se muestran los promedios de las lecturas a diferentes concentraciones del extracto de la cáscara de la *Ananas comosus* de la variedad de lorenza y obtenidas de 30 lecturas por cada concentración (ver ANEXO N° 06), en la Tabla N° 24, se encuentra el porcentaje de inhibición con las debidas concentraciones donde la actividad antioxidante superior al 25% se encuentra en concentraciones de 5mg/ml.

TABLA N° 23. Promedios de las repeticiones y lecturas realizadas en la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad lorenza.

| Número de Lecturas | Promedio Solución DPPH (1mM) | Extracto etanólico cáscara de <i>Ananas comosus</i> (muestra-seca) Lorenza | | | |
|-----------------------------|------------------------------|--|--------------|--------------|--------------|
| | | Concentraciones | | | |
| | | 5 mg/ml | 0.5 mg/ml | 0.1 mg/ml | 0.05 mg/ml |
| 1 | 0.312 | 0.023 | 0.113 | 0.079 | 0.062 |
| 2 | 0.311 | 0.022 | 0.113 | 0.079 | 0.062 |
| 3 | 0.311 | 0.022 | 0.113 | 0.078 | 0.062 |
| 4 | 0.311 | 0.021 | 0.113 | 0.079 | 0.062 |
| 5 | 0.311 | 0.021 | 0.112 | 0.079 | 0.062 |
| 6 | 0.311 | 0.020 | 0.113 | 0.078 | 0.062 |
| 7 | 0.311 | 0.020 | 0.112 | 0.078 | 0.062 |
| 8 | 0.310 | 0.019 | 0.112 | 0.079 | 0.062 |
| 9 | 0.311 | 0.019 | 0.113 | 0.078 | 0.082 |
| 10 | 0.311 | 0.018 | 0.112 | 0.078 | 0.082 |
| Promedio | 0.311 | 0.021 | 0.113 | 0.079 | 0.066 |
| Porcentaje de Inhibición, % | | 93.39 | 63.77 | 74.71 | 78.77 |

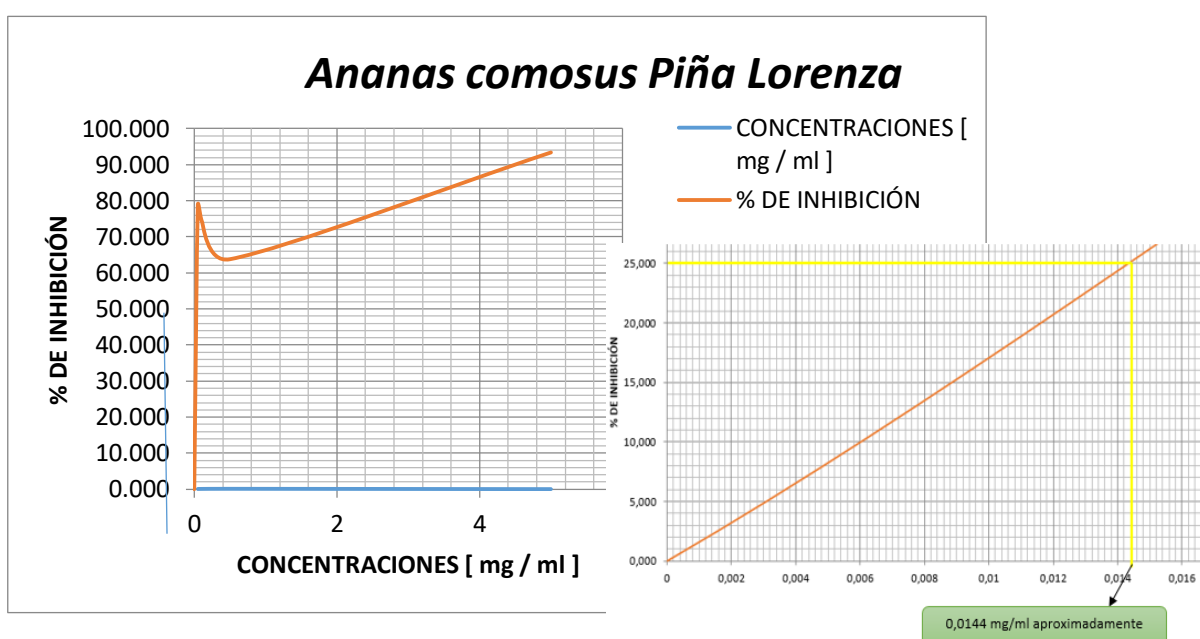
Fuente: Propia.

TABLA N° 24. Porcentaje de inhibición de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad de Lorenza.

| MUESTRA Cáscara PIÑA Lorenza | | | | |
|------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| CONCENTRACIONES [mg/ml] | 5 | 0.5 | 0.1 | 0.05 |
| PROMEDIO DE [mg/ml] | 0.021 | 0.113 | 0.079 | 0.066 |
| % DE INHIBICIÓN | 93.39 | 63.77 | 74.7 | 75.55 |

Fuente: Propia.

En la Figura N° 06, se puede observar el comportamiento de la actividad antioxidante de la cáscara de la *Ananas comosus* Lorenza, en ella se puede determinar que la concentración inhibitoria mínima de 25% de actividad antioxidante es aproximadamente a 0.0144 mg/ml y que la actividad inhibitoria a medida que aumenta la concentración del extracto.



Fuente Propia.

FIGURA N° 06. Porcentaje de inhibición a las diferentes concentraciones de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad Lorenza.

4.4.2.1 Evaluación de Fenoles Totales de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad lorenza.

Los fenoles totales de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) en las variedades de Lorenza fueron cuantificados mediante la curva patrón del ácido gálico (ver ANEXO N° 17). En la Tabla N° 25, se muestra la forma de calcular y el contenido de fenoles totales en la cascara de la variedad lorenza en ella se puede observar el valor 29.71 ± 0 mg EAG/100 g muestra original, siendo un promedio de las mediciones.

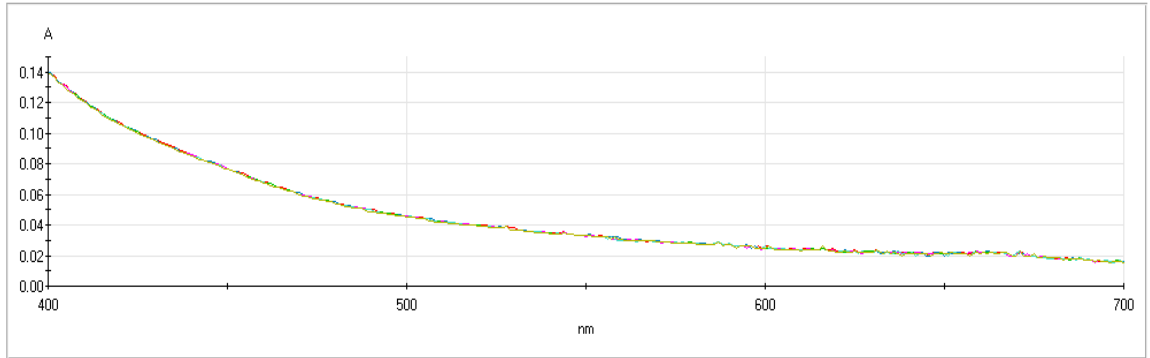
TABLA N° 25. Contenido de fenoles totales de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad Lorenza.

| Tipo de muestra | Código | repetición | Masa alícuota de extracto seco | Masa alícuota de extracto seco | Volúmen enrasado 1 | Volúmen alícuota (ml) | Volúmen enrasado 2 | Alícuota en el tubo | lectura en el espectrofotómetro | concentración FT | concentración FT | concentración FT | concentración FT | MEDIA FT | DS | |
|-------------------|--------|------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|---------------------|---------------------------------|------------------|------------------|------------------|--------------------------------|------------------------------|--------|------------------------------|
| | | | (g) | (mg) | (ml) | (ml) | (ml) | factor de dilución | (ml) | Abs.765 nm | mgGAE/mL | mgGAE | mgGAE/mg Alícuota extrato seco | mgGAE/100 g muestra original | | mgGAE/100 g muestra original |
| | | | a | b = a*1000 | c | d | e | f=e/d | g | h | i = h/a | j = i*c | k = j/a | j = h/a | | |
| CASCARA LORENZA 1 | 1 | R1 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.276 | 0.025 | 0.492 | 4.923 | 29.714 | 29.714 | 0.000 |
| | | R2 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.276 | 0.025 | 0.492 | 4.923 | 29.714 | | |
| | | R3 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.276 | 0.025 | 0.492 | 4.923 | 29.714 | | |
| CASCARA LORENZA 2 | 2 | R1 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.276 | 0.025 | 0.492 | 4.923 | 29.714 | 29.714 | 0.000 |
| | | R2 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.276 | 0.025 | 0.492 | 4.923 | 29.714 | | |
| | | R3 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.276 | 0.025 | 0.492 | 4.923 | 29.714 | | |
| TOTAL | | | | | | | | | | | | | 29.71 | - | | |

Fuente: Propia.

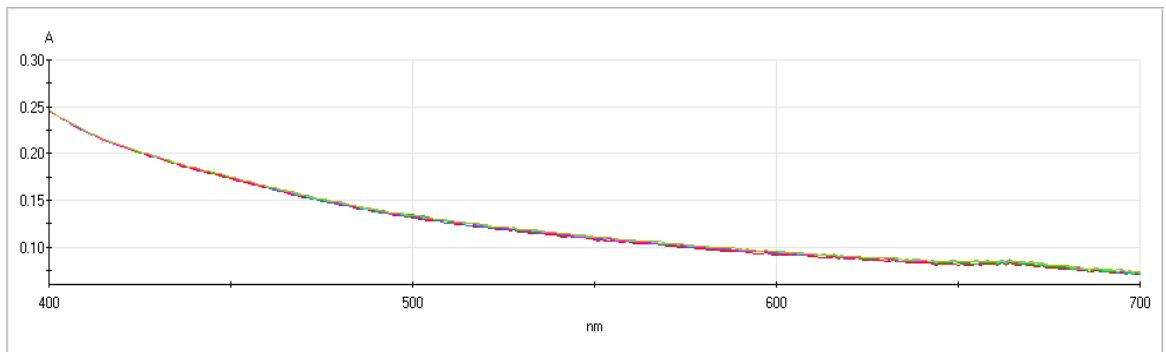
4.4.2.2 Evaluación de Antocianinas de la cáscara de la *Ananas Comosus* (Piña) - variedad de Lorenza.

En las Figuras N° 07 y N° 08, se muestra el espectro de absorción a pH 4.5 y pH 1.0 del extracto etanólico de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña)-variedad lorenza hecho por un barrido de absorción a λ de 400 a 700 nm, en ella se puede observar pequeñas absorciones en forma de picos que es característico de la presencia de antocianinas.



Fuente: Propia.

FIGURA N° 07. Absorción del extracto etanólico de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad lorentza de 400 a 700 nm a pH 4.5 para la determinación de antocianinas.



Fuente: Propia.

FIGURA N° 08. Absorción del extracto etanólico de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad lorentza de 400 a 700 nm a pH 1 para la determinación de antocianinas.

En la Tabla N° 26, se muestra las absorbancias de pequeños picos más representativos obtenidos entre 400 a 700 nm que aparecen en la Figuras 07 y 08 por triplicado de la cascara de la *Ananas comosus* (piña)-variedad lorentza a pH 1 y pH 4.5 y valores fijos a 700 nm a los pHs, la cantidad promedio obtenido de antocianinas aplicando la formula descrita en la metodología NO se encontró presencia de antocianinas.

TABLA N° 26. Absorciones y cálculo de antocianinas presentes en la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad lorenza.

| Tipo de muestra | Código | repetición | ABS = λ Vis-máx pH 1 | ABS = λ Vis-máx nm pH 4.5 | ABS = 700 nm pH 1 | ABS = 700 nm pH 4.5 | A = (a-c)-(b-d) | PM | FD | ϵ | L | Concentración de Antocianinas mgCianidina-3-glucosido/100 g amostra original | Media Antocianinas mgCianidina-3-glucosido/100 g amostra original | SD |
|-----------------|------------|------------|------------------------------|-----------------------------------|-------------------|---------------------|-----------------|-------|-----|------------------------|-----|--|---|--------|
| | | | (a) | (b) | (c) | (d) | | g/mol | | L/cm ² *mol | cm | | | |
| CASCARA LORENZA | extracto 1 | R1 | 0.0900 | 0.0360 | 0.074 | 0.015 | -0.0050 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | -0.6048 | | |
| | | R2 | 0.0880 | 0.0260 | 0.074 | 0.015 | 0.0030 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | 0.3629 | -0.8467 | 1.3469 |
| | | R3 | 0.0850 | 0.0460 | 0.074 | 0.016 | -0.0190 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | -2.2981 | | |
| CASCARA LORENZA | extracto 1 | R4 | 0.0880 | 0.0430 | 0.074 | 0.015 | -0.0140 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | -1.6933 | | |
| | | R5 | 0.0970 | 0.0330 | 0.074 | 0.015 | 0.0050 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | 0.6048 | - | 1.4863 |
| | | R6 | 0.0970 | 0.0290 | 0.074 | 0.015 | 0.0090 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | 1.0886 | | |
| TOTAL | | | | | | | | | | | | 0 | 0 | |

Fuente Propia.

4.4.2.3 Evaluación de Flavonoides de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad Lorenza.

Los flavonoides presentes en la cáscara de la especie cáscara de la *Ananas comosus* (piña)-variedad lorenza fue determinado por absorción a $\lambda=415$ nm y se consignan los datos en la Tabla N° 27 presenciamos 0.02g de flavonoides en quercetina/100g muestra original.

TABLA N° 27. Determinación de flavonoides de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad lorenza.

| Tipo de amostra | Código | repetición | ABSORBANCIA | PM | FD | ϵ | L | Concentración de Flavonoides g quercetina/100 g amostra original | Media Flavonoides g quercetina/100 g amostra original | SD |
|-----------------|------------|------------|-------------|---------|-------|------------------------|------|--|---|----------|
| | | | | g/mol | | L/cm ² *mol | cm | | | |
| CASCARA LORENZA | extracto 1 | R1 | 0.001 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 | 0.02 | 0.02 | - |
| | | R2 | 0.001 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 | 0.02 | 0.02 | |
| | | R3 | 0.001 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 | 0.02 | 0.02 | |
| CASCARA LORENZA | extracto 2 | R4 | 0.001 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 | 0.02 | 0.02 | - |
| | | R5 | 0.001 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 | 0.02 | 0.02 | |
| | | R6 | 0.001 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 | 0.02 | 0.02 | |
| TOTAL | | | | | | | | | 0.02 | - |

Fuente: Propia.

4.4.2.4 Evaluación de Taninos de la cáscara de la *Ananas Comosus* (Piña) - Variedad Lorenza.

Los taninos condensados, fueron cuantificados mediante la ecuación de la curva estándar de taninos obtenido en las mismas condiciones que se obtuvieron de las muestras (ver ANEXO N° 18), donde las concentraciones de 20, 40, 60, 80, 100 $\mu\text{g/ml}$ ($y = 0.01063x + 0.00961$; $R^2 = 0.9964$) y la absorbancia

respectiva medida a una $\lambda = 500$ nm, esta curva fue empleada para la determinación de taninos en la madera y las hojas.

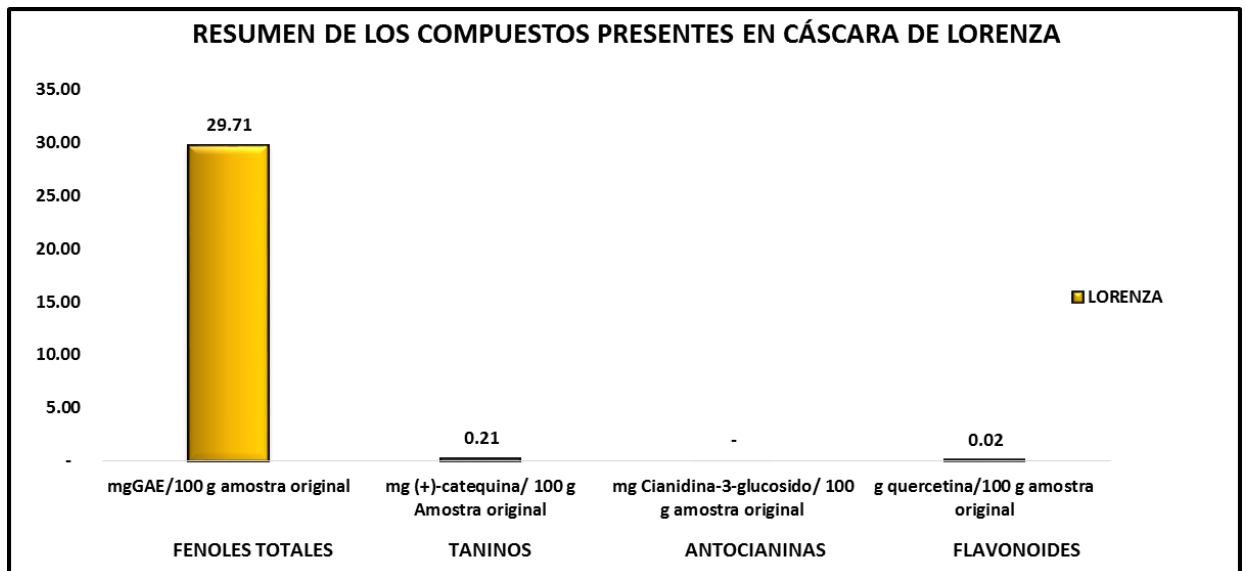
La determinación de la presencia de taninos se muestra en el tabla N° 28 con un valor de 0.21mg (+)-0.06catequina/100g de muestra original.

TABLA N° 28. Contenido de taninos de la cáscara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad lorenza.

| Tipo de muestra | Código | repetición | Masa | Masa | Volumen Acertado 1 | Alicuota en el tubo | lectura en el Equipo | concentración taninos | concentración taninos | concentración taninos | concentración taninos | concentración taninos | MEDIA | DS |
|-------------------|--------|------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------|---------------------|----------------------|-------------------------------------|-----------------------|-----------------------|--|---|---|-------|
| | | | Alicuota del extrato seco (g) | Alicuota del extrato seco (mg) | | | Abs 500 nm | $\mu\text{g}(+)\text{Catequina/mL}$ | mg(+)-Catequina/mL | mg(+)-Catequina | mg (+)-catequina/g alicuota extrato seco | mg (+)-catequina/100 g Amostra original | mg (+)-catequina/100 g Amostra original | |
| | | | a | b = a*1000 | c | e | f | g = @ | g = @ | h = g* c | i = h / b | j = h/a | | |
| CASCARA LORENZA | 1 | R1 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | 0.012 | 0.225 | 0.000 | 0.004 | 0.045 | 0.271 | 0.234 | 0.066 |
| | | R2 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | 0.011 | 0.131 | 0.000 | 0.003 | 0.026 | 0.158 | | |
| | | R3 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | 0.012 | 0.225 | 0.000 | 0.004 | 0.045 | 0.271 | | |
| CASCARA LORENZA 2 | 2 | R1 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | 0.011 | 0.131 | 0.000 | 0.003 | 0.026 | 0.158 | 0.196 | 0.066 |
| | | R2 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | 0.011 | 0.131 | 0.000 | 0.003 | 0.026 | 0.158 | | |
| | | R3 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | 0.012 | 0.225 | 0.000 | 0.004 | 0.045 | 0.271 | | |
| TOTAL | | | | | | | | | | | | 0.21 | 0.07 | |

Fuente: Propia.

4.4.2.5 Resumen de los Compuestos Fenólicos en cáscara de *Ananas Comosus* en la Variedad De Lorenza.

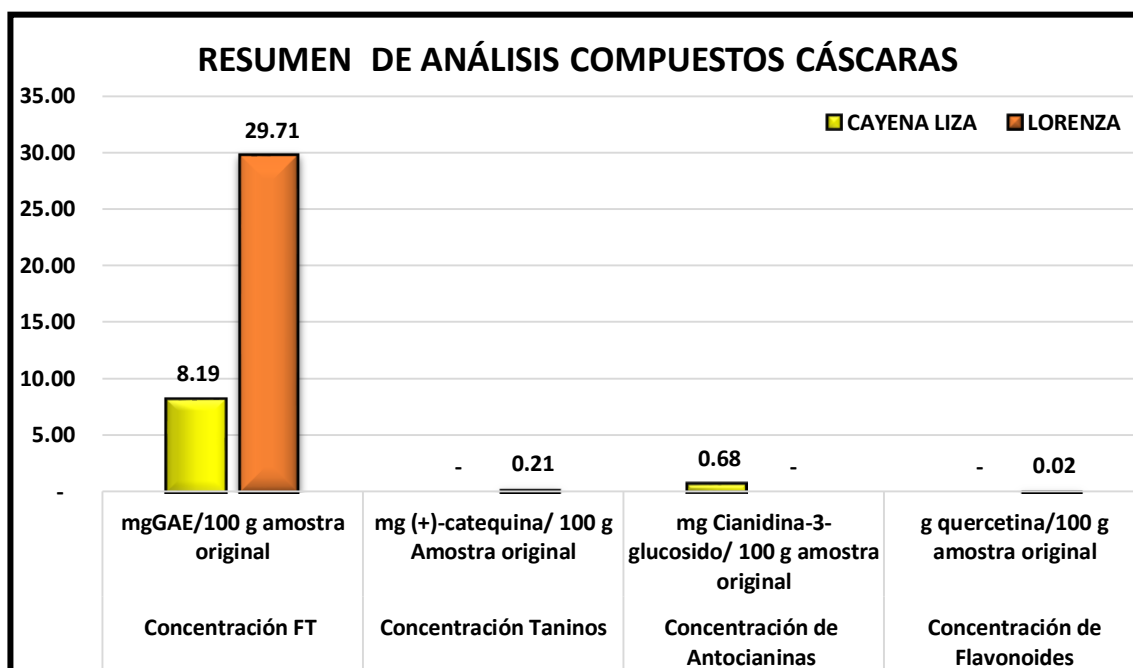


Fuente: propia.

FIGURA N° 09. Resumen de Compuestos fenólicos en cáscara de *Ananas comosus* piña en la variedad de lorenza.

En la figura N° 09, la mayor presencia es de fenoles totales con 29.71mgGAE/100 g muestra original, seguidamente de taninos en pequeñas cantidades con un 0.21 mg (+)-catequina/ 100 g de muestra original y de flavonoides 0.02 g quercetina/100 g de muestra original, no se encontraron antocianinas.

4.4.3 Comparación de Compuestos Fenólicos de las cáscaras de las variedades de Cayena liza y Lorenza.



Fuente: Propia.

FIGURA N ° 10. Comparación de compuestos fenólicos de las cáscaras de *Ananas comosus* en las variedades de cayena liza y lorenza.

En la figura N° 10. Muestra en mayor proporción Fenoles totales fenoles totales (8.19 ± 0.00 mg EAG/100 g muestra original) en Piña Cayena liza y (21.71 ± 0.00 mg EAG/100 g muestra original) en Piña Lorenza, seguidamente de antocianinas (0.68 ± 0.35 mg de cianidina-3-glucosido/100 g de muestra original) en cayena liza y negativo en lorenza, en poca proporción de taninos (0.21 ± 0.07 mg (+)-catequina/100g de muestra original) en lorenza y negativo en cayena liza y flavonoides (0.02 g quercetina/100g muestra original) en lorenza y negativo en cayena liza.

4.5 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, FENOLES TOTALES, ANTOCIANINAS, FLAVONOIDES Y TANINOS DE LAS PULPAS DE *Ananas comosus* PIÑA EN LAS VARIEDADES DE CAYENA LIZA Y LORENZA.

4.5.1 Determinación de la Actividad Antioxidantes de la Pulpa de la *Ananas Comosus* (Piña) en la variedad de Cayena liza con el Método Del DPPH.

En la Tabla N° 29, se muestran los promedios de las lecturas a diferentes concentraciones del extracto de la PULPA de la *Ananas comosus* de cayena liza y obtenidas de 30 lecturas por cada concentración (ver ANEXO N° 07), en la Tabla N° 30, se encuentra el porcentaje de inhibición con las debidas concentraciones donde la actividad antioxidante superior al 25% se encuentra en concentraciones de 0.05mg/ml, con el porcentaje de inhibición de 52%.

TABLA N° 29. Promedios de las repeticiones y lecturas realizadas en la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - Variedad cayena liza.

| Número de Lecturas | Promedio Solución DPPH (1mM) | Extracto etanólico de <i>Ananas comosus</i> (pulpa) | | | |
|-----------------------------|------------------------------|---|-----------|------------|------------|
| | | 0.25 mg/ml | 0.1 mg/ml | 0.05 mg/ml | 0.01 mg/ml |
| 1 | 0.312 | 0.169 | 0.167 | 0.149 | 0.150 |
| 2 | 0.311 | 0.169 | 0.167 | 0.148 | 0.149 |
| 3 | 0.311 | 0.169 | 0.167 | 0.149 | 0.149 |
| 4 | 0.311 | 0.169 | 0.165 | 0.148 | 0.148 |
| 5 | 0.311 | 0.169 | 0.166 | 0.149 | 0.148 |
| 6 | 0.311 | 0.169 | 0.166 | 0.149 | 0.149 |
| 7 | 0.311 | 0.169 | 0.166 | 0.148 | 0.148 |
| 8 | 0.310 | 0.169 | 0.167 | 0.148 | 0.149 |
| 9 | 0.311 | 0.169 | 0.166 | 0.148 | 0.148 |
| 10 | 0.311 | 0.170 | 0.166 | 0.148 | 0.148 |
| Promedio | 0.311 | 0.169 | 0.166 | 0.149 | 0.149 |
| Porcentaje de Inhibición, % | | 45.62 | 46.54 | 52.25 | 52.22 |

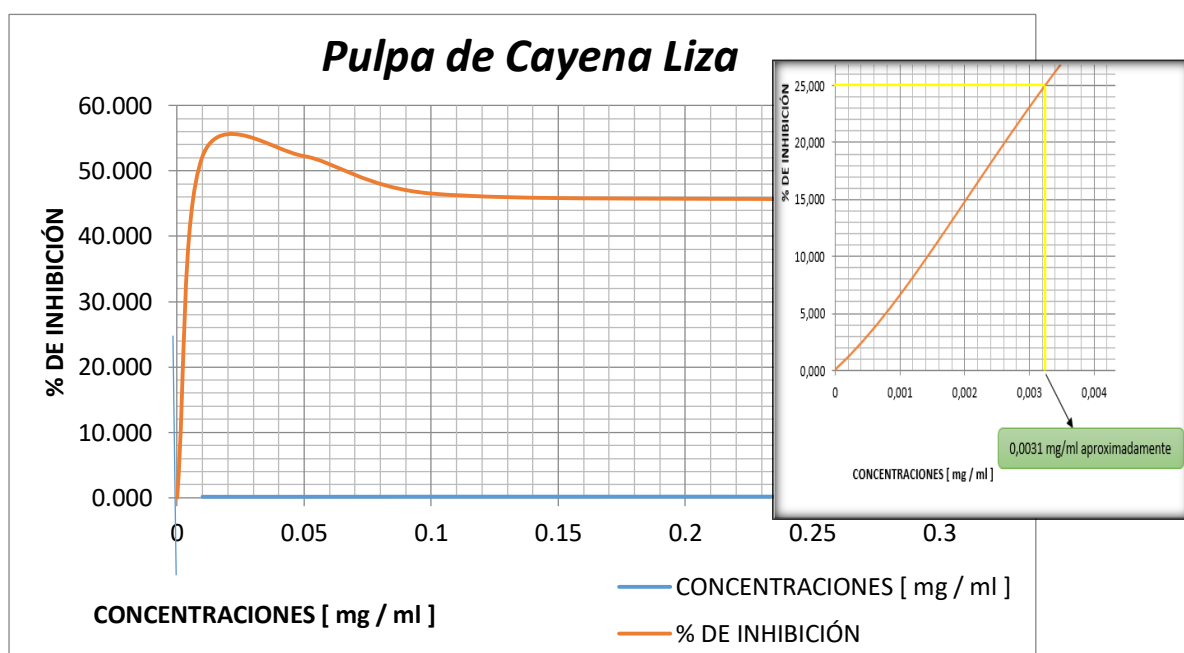
Fuente: Propia.

TABLA N° 30. Porcentaje de inhibición de la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad Cayena liza.

| MUESTRA <i>Ananas comosus</i> | | | | |
|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| CONCENTRACIONES [mg / ml] | 0.25 | 0.1 | 0.05 | 0.01 |
| PROMEDIO DE [mg/ml] | 0.169 | 0.166 | 0.149 | 0.149 |
| % DE INHIBICIÓN | 45.62 | 46.54 | 52.25 | 52.22 |

Fuente: Propia.

En la Figura N° 11, se puede observar el comportamiento de la actividad antioxidante de la pulpa de la *Ananas comosus* cayena liza en ella se puede determinar que la concentración inhibitoria mínima de 25% de actividad antioxidante es aproximadamente a promedio de 0.0031 mg/ml y la máxima concentración es a 0.02 mg/ml con un porcentaje de actividad de 56%, sin embargo después la concentración del extracto la actividad sufre un pequeño descenso, hasta volverse regular en un 46%.



Fuente: Propia.

FIGURA N° 11. Porcentaje de inhibición a las diferentes concentraciones de la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad cayena liza.

Según Tovar (2013), determinó la actividad antioxidante de la parte aérea de 30 plantas que pertenecen a 8 familias en Colombia, en ella considera como extracto activo a aquel que muestra un porcentaje de actividad

antioxidante superior al 25%; valor que se usó como referencia considerando que equivale a la mitad de la actividad antioxidante presentada por la hidroquinona, ya que utilizó a este como control positivo, similar al trabajos nuestro.

Según KUKOSKI (2005) encontró por el método de DPPH 41.1 ± 0.8 y por el ABTS la capacidad es de 64.8 ± 5.2 y por DMPD es de 89.9 ± 0.9 , todos equivalentes a Trolox. De acuerdo con diferentes tiempos se encontró por los métodos ya mencionado anteriormente en el intervalo de 30 min tenemos de 0.5 ± 0.01 , de 60 minutos tenemos 0.6 ± 0.1 luego por 1 minuto 2.9 ± 0.6 en 7 min es de 3.4 ± 0.3 y de DMPD en 10 min es de 5.3 ± 0.0 ($\mu\text{mol TE/g}$ peso muestra). Según los extractos fitoquímicos dio una actividad antioxidante de 16,9 (0,3 mmol/g).

4.5.1.1 Evaluación de Fenoles Totales de la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad Cayena liza.

Los fenoles totales de la cascara de la *Ananas comosus* (piña) en las variedades de cayena liza fueron cuantificados mediante la ecuación de la curva patrón del ácido gálico obtenido en las mismas condiciones que se obtuvieron de las muestras tal como se observa en el ANEXO N° 17, donde la concentración del ácido gálico que va a concentraciones de 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 y 0.1 mg/ml ($y = 10.315x + 0.0221$; $R^2 = 0.9967$) y la absorbancia respectiva medida a una $\lambda = 765$ nm.

TABLA N° 31. Contenido de fenoles totales de la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad cayena liza.

| Tipo de muestra | Código | repetición | Mesa alicuota | Mesa alicuota | Volumen enrasado 1 | Volumen alicuota | Volumen enrasado 2 | factor de dilución | Alicuota en el tubo | lectura en el | concentración | concentración | concentración | concentración | MEDIA FT | DS |
|------------------------|--------|------------|------------------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-------------|----|
| | | | de extracto seco | de extracto seco | | | | | | enrasado 1 | enrasado 2 | enrasado 1 | enrasado 2 | enrasado 1 | | |
| | | n | (g) | (mg) | (ml) | (ml) | (ml) | (ml) | (ml) | Abs.765 nm | mgGAE/mL | mgGAE | mgGAE/mg | mgGAE/100 g | mgGAE/100 g | |
| | | | a | b = a*1000 | c | d | e | f = e/d | g | h | i = @ | j = i * c | k = j / a | l = h / a | | |
| PULPA CAYENA LIZA 1 | 1 | R1 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.089 | 0.006 | 0.130 | 1.297 | 35.880 | 35.880 | - |
| | | R2 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.089 | 0.006 | 0.130 | 1.297 | 35.880 | | |
| | | R3 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.089 | 0.006 | 0.130 | 1.297 | 35.880 | | |
| PULPA CAYENA LIZA 2 | 2 | R1 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.089 | 0.006 | 0.130 | 1.297 | 35.880 | 35.880 | - |
| | | R2 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.089 | 0.006 | 0.130 | 1.297 | 35.880 | | |
| | | R3 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.089 | 0.006 | 0.130 | 1.297 | 35.880 | | |
| TOTAL | | | | | | | | | | | | | | 35.88 | - | |

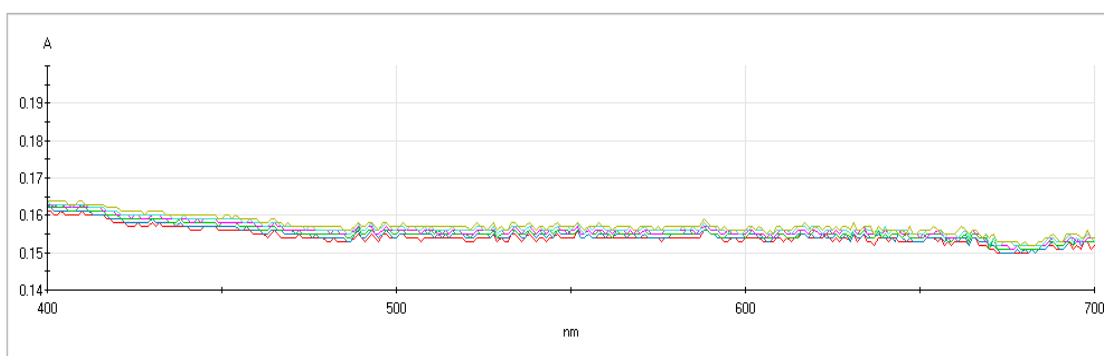
Fuente: Propia.

En la Tabla N° 31, se muestra la forma de calcular y el contenido de fenoles totales en la pulpa de la variedad cayena liza en ella se puede observar el valor 35.880 ± 0.00 mg EAG/100 g muestra original, siendo un promedio de las mediciones, existen trabajos anteriores para esta especie, Según KUSKOSKI 2005, encontró en su análisis en la variedad de Cayena liza de piña la cantidad de fenoles totales de $21,7 \pm 4,5$ mg/100g.

Según BESERRA *et al.*, (2011), mismo, el contenido de fenoles totales y antocianinas totales fueron investigados en 11 frutas tropicales, en el cual el total de polifenoles varió de 13,5 a 159,9 mg de equivalentes de ácido gálico (GAE)/100 g de peso seco. Entre las 11 frutas tropicales estudiadas, se encontraron valores bajo en piña (13,5; 29,0 y 38,1 mg de GAE/100 g).

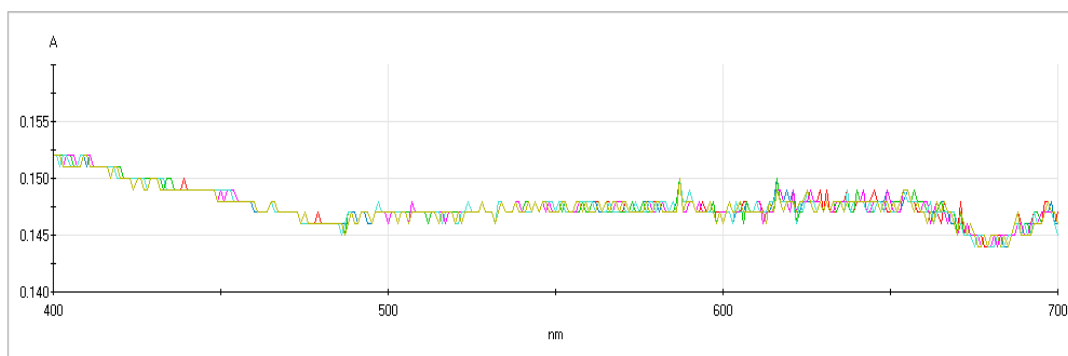
4.5.1.2 Evaluación de Antocianinas de la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad Cayena liza.

En las Figuras N° 12 y 13, se muestra el espectro de absorción a pH 4.5 y pH 1.0 del extracto etanólico de la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad cayena liza hecho por un barrido de absorción a λ de 400 a 700 nm, en ella se puede observar pequeñas absorciones en forma de picos que es característico de la presencia de antocianinas.



Fuente: Propia.

FIGURA N° 12. Absorción del extracto etanólico de la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad cayena liza de 400 a 700 nm a pH 4.5 para la determinación de antocianinas.



Fuente: Propia.

FIGURA N° 13. Absorción del extracto etanólico de la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad cayena liza de 400 a 700 nm a pH 1 para la determinación de antocianinas.

En la Tabla N° 32, se muestra las absorbancias de pequeños picos más representativos obtenidos entre 400 a 700 nm que aparecen en la Figuras 12 y 13 por triplicado de la cascara de la *Ananas comosus* (piña) - variedad cayena liza a pH 1 y pH 4.5 y valores fijos a 700 nm a los pHs, la cantidad promedio obtenido de antocianinas aplicando la formula descrita en la metodología fue de 1.11 ± 0.96 mg de cianidina-3-glucosido/100 g de muestra original.

TABLA N° 32. Absorciones y cálculo de antocianinas presentes en la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad cayena liza.

| Tipo de muestra | Código | repetición | ABS = λ Vis-máx pH 1 | ABS = λ Vis-máx nm pH 4.5 | ABS = 700 nm pH 1 | ABS = 700 nm pH 4.5 | A = (a-c)-(b-d) | PM | FD | ϵ | L | Concentración de Antocianinas mgCianidina-3-glucosido/ 100 g muestra original | Media Antocianinas mgCianidina-3-glucosido/ 100 g muestra original | SD |
|-------------------|------------|------------|------------------------------|-----------------------------------|-------------------|---------------------|-----------------|-------|-----|-----------------------|-----|---|--|--------|
| | | | (a) | (b) | (c) | (d) | | g/mol | | L/cm ² mol | cm | | | |
| PULPA CAYENA LIZA | extracto 1 | R1 | 0.1480 | 0.1560 | 0.147 | 0.156 | 0.0010 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | 0.5543 | 1.6629 | 0.9601 |
| | | R2 | 0.1500 | 0.1560 | 0.146 | 0.156 | 0.0040 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | 2.2172 | | |
| | | R3 | 0.1500 | 0.1560 | 0.146 | 0.156 | 0.0040 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | 2.2172 | | |
| PULPA CAYENA LIZA | extracto 1 | R4 | 0.1500 | 0.1570 | 0.147 | 0.157 | 0.0030 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | 1.6629 | 0.5543 | 0.9601 |
| | | R5 | 0.1480 | 0.1580 | 0.147 | 0.157 | - | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | - | | |
| | | R6 | 0.1490 | 0.1590 | 0.147 | 0.157 | - | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | - | | |
| TOTAL | | | | | | | | | | | | 1.11 | 0.96 | |

Fuente: Propia.

Las antocianinas, son bioactivos importantes que tienen funciones y acciones biológicas, que incluye actividad oxidante, que promueve la prevención de enfermedades crónico-degenerativas (HOGAN *et al.*, 2010). Según KUKOSKI (2005) no detecto antocianinas.

4.5.1.3 Evaluación de Flavonoides de la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad Cayena liza.

Los flavonoides presentes en la pulpa de la especie de *Ananas comosus* (piña)-variedad cayena liza fue determinado por absorción a $\lambda=415$ nm y se consignan los datos en la Tabla N° 33, obteniendo 17.01 ± 0 g quercetina/100g muestra original.

TABLA N° 33. Determinación de flavonoides de la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad cayena liza.

| Tipo de amostra | Código | repetición | ABSORBANCIA | PM | FD | ϵ | L | Concentración de Flavonoides | Media Flavonoides | SD |
|-------------------|------------|------------|-------------|---------|-------|------------------------|------|-------------------------------------|-------------------------------------|----------|
| | | | | g/mol | | L/cm ² *mol | cm | g quercetina/100 g amostra original | g quercetina/100 g amostra original | |
| PULPA CAYENA LIZA | extracto 1 | R1 | 0.16 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 | 17.01 | 17.01 | - |
| | | R2 | 0.16 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 | 17.01 | | |
| | | R3 | 0.16 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 | 17.01 | | |
| PULPA CAYENA LIZA | extracto 2 | R4 | 0.16 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 | 17.01 | 17.01 | - |
| | | R5 | 0.16 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 | 17.01 | | |
| | | R6 | 0.16 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 | 17.01 | | |
| TOTAL | | | | | | | | | 17.01 | - |

Fuente: Propia.

Según investigaciones del Departamento de Fisiología de la Universidad de León y del Hospital de León, la contribución de los flavonoides al potencial antioxidante de la dieta humana es importante. Aunque los hábitos alimenticios son muy diversos en el mundo, el valor medio de ingesta de flavonoides se estima en unos 23 miligramos al día, teniendo en cuenta que el consumo medio de sustancias antioxidantes tan valoradas como la vitamina C es de entre 70-100 miligramos al día y el de la vitamina E, de entre 7-10 miligramos diarios, se puede considerar como relevante la contribución de los flavonoides como antioxidantes a la dieta. (EROSKI, 2014).

4.5.1.4 Evaluación de Taninos en la pulpa de *Ananas Comosus* (Piña) - Variedad Cayena liza.

Los taninos condensados, fueron cuantificados mediante la ecuación de la curva estándar de taninos obtenido en las mismas condiciones que se obtuvieron de las muestras tal como se observa en el ANEXO N° 18, donde

las concentraciones de 20, 40, 60, 80, 100 µg/ml ($y = 0.01063x + 0.00961$; $R^2 = 0.9964$) y la absorbancia respectiva medida a una $\lambda = 500$ nm, esta curva fue empleada para la determinación de taninos en la pulpa de piña.

TABLA N° 34. Contenido de taninos de la pulpa de la *Ananas comosus* (piña)-variedad cayena liza.

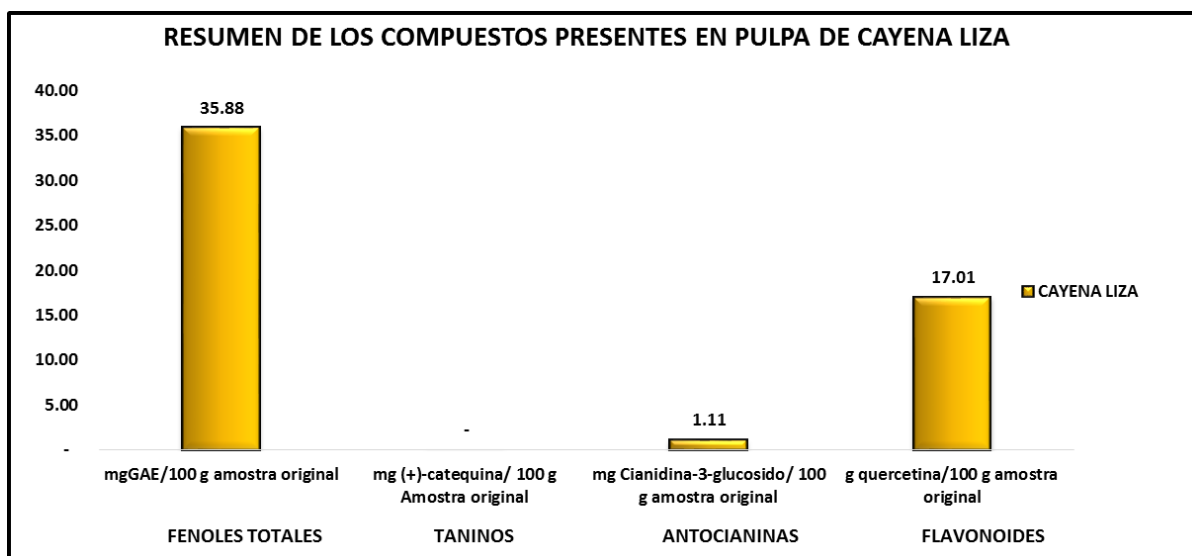
| Tipo de muestra | Código | repetición | Masa Alicuota del extrato seco (g) | Masa Alicuota del extrato seco (mg) | Volumen Acertado 1 (ml) | Alicuota en el tubo (mL) | lectura en el Equipo Abs.500 nm | concentración taninos µg(+)-Catequina/mL | concentración taninos mg(+)-Catequina/mL | concentración taninos mg(+)-Catequina | concentración taninos mg (+)-catequina/g alicuota extrato seco | concentración taninos mg (+)-catequina/ 100 g Amostra original | MEDIA concentración taninos mg (+)-catequina/ 100 g Amostra original | DS |
|-------------------|--------|------------|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------------|--|--|---------------------------------------|--|--|--|----|
| | | | a | b = a*1000 | c | e | f | g = @ | g = @ | h = g * c | i = h / b | j = h/a | | |
| PULPA CAYANA LISA | 1 | R1 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | -0.014 | 2.221 | 0.002 | 0.044 | 0.444 | 12.288 | 12.288 | - |
| | | R2 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | -0.014 | 2.221 | 0.002 | 0.044 | 0.444 | 12.288 | | |
| | | R3 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | -0.014 | 2.221 | 0.002 | 0.044 | 0.444 | 12.288 | | |
| PULPA CAYANA LISA | 2 | R1 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | -0.014 | 2.221 | 0.002 | 0.044 | 0.444 | 12.288 | 12.288 | - |
| | | R2 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | -0.014 | 2.221 | 0.002 | 0.044 | 0.444 | 12.288 | | |
| | | R3 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | -0.014 | 2.221 | 0.002 | 0.044 | 0.444 | 12.288 | | |
| TOTAL | | | | | | | | | | | | | 0 | |

Fuente Propia.

La determinación de la presencia de taninos se muestra en la tabla N° 34 con un valor negativo indicando que no hay presencia de taninos en muestra original.

Las proto antocianidinas tienen gran interés en la nutrición y la medicina por su capacidad antioxidante y posibles efectos protectores en la salud humana (Al-Jaber *et al*, 2015), Santos-Belga y Scalbert, (2000). Existe una relación entre la propiedad antioxidante y capacidad atrapadora del radical libre (DA SILVA *et. al*, 1991).

4.5.1.5 Resumen de Compuestos Fenólicos en la variedad de Cayena liza.



Fuente: Propia.

FIGURA N° 14. Resumen de los compuestos fenólicos en pulpa de la *Ananas comosus* en la variedad de cayena liza.

En la figura N° 14, muestra en mayor proporción fenoles totales con 35.88 GAE/100 g de muestra original, seguidamente de flavonoides 17.01 g quercetina/100 g de muestra original, antocianinas con 1.11 mg cianidina-3-glucosido/100 g de muestra original, no se encontró taninos.

4.5.2 Determinación de la Actividad Antioxidantes de la pulpa de la *Ananas Comosus* (Piña) en la variedad de Lorenza.

En la Tabla N° 35, se muestran los promedios de las lecturas a diferentes concentraciones del extracto de la cascara de la *Ananas comosus* de la variedad de lorenza y obtenidas de 30 lecturas por cada concentración (ver ANEXO N° 08), en la Tabla N° 36 se encuentra el porcentaje de inhibición con las debidas concentraciones donde la actividad antioxidante superior al 25% se encuentra en concentraciones de 0.079mg/ml.

TABLA N° 35. Promedios de las repeticiones y lecturas realizadas en la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad Lorenza.

| Número de Lecturas | Promedio Solución DPPH (1mM) | Extracto etanólico piña lorenza (muestra-seca) pulpa | | | | |
|-----------------------------|------------------------------|--|-----------|-----------|------------|------------|
| | | Concentraciones | | | | |
| | | 5 mg/ml | 0.5 mg/ml | 0.1 mg/ml | 0.05 mg/ml | 0.01 mg/ml |
| 1 | 0.312 | 0.083 | 0.098 | 0.161 | 0.268 | 0.285 |
| 2 | 0.311 | 0.081 | 0.098 | 0.272 | 0.193 | 0.096 |
| 3 | 0.311 | 0.080 | 0.098 | 0.481 | 0.230 | 0.058 |
| 4 | 0.311 | 0.080 | 0.098 | 0.187 | 0.293 | 0.061 |
| 5 | 0.311 | 0.079 | 0.098 | 0.188 | 0.099 | 0.062 |
| 6 | 0.311 | 0.079 | 0.099 | 0.315 | 0.175 | 0.061 |
| 7 | 0.311 | 0.078 | 0.098 | 0.309 | 0.301 | 0.062 |
| 8 | 0.310 | 0.078 | 0.098 | 0.322 | 0.186 | 0.061 |
| 9 | 0.311 | 0.078 | 0.098 | 0.180 | 0.207 | 0.062 |
| 10 | 0.311 | 0.077 | 0.098 | 0.217 | 0.175 | 0.061 |
| Promedio | 0.311 | 0.079 | 0.098 | 0.263 | 0.213 | 0.087 |
| Porcentaje de Inhibición, % | | 74.48 | 68.46 | 15.40 | 31.60 | 72.08 |

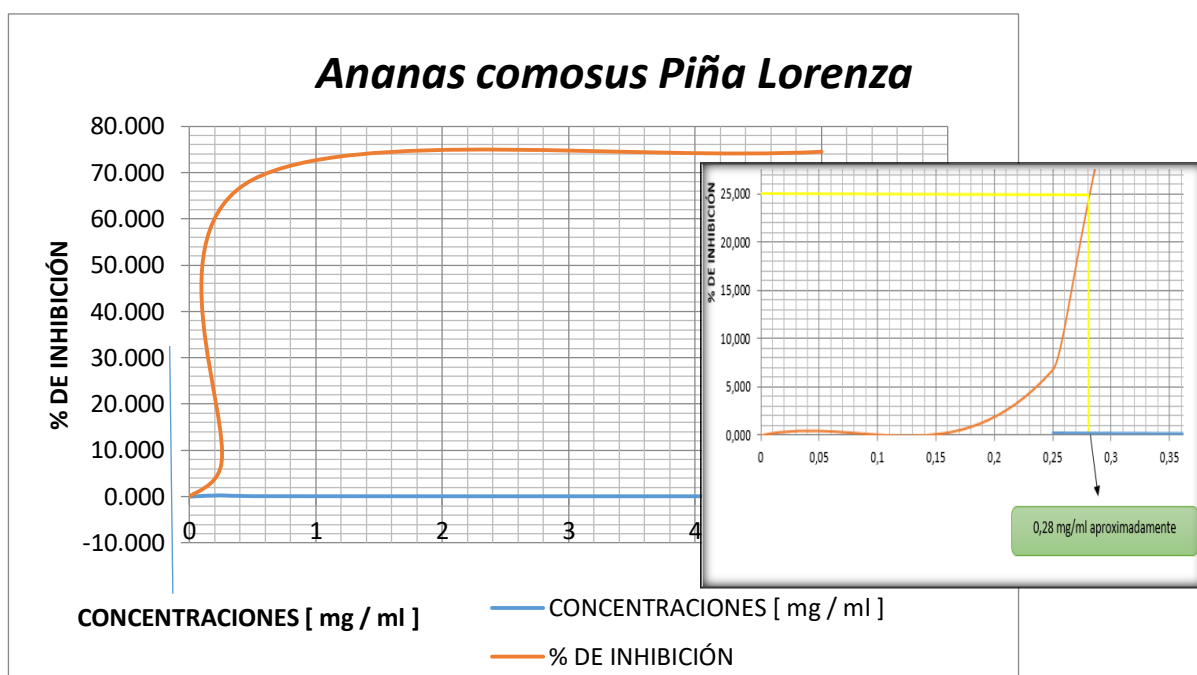
Fuente: Propia.

TABLA N° 36. Porcentaje de inhibición de la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad Lorenza.

| MUESTRA <i>Ananas comosus</i> PIÑA variedad Lorenza | | | | |
|---|-------|-------|-------|-------|
| CONCENTRACIONES [mg / ml] | 5 | 0.5 | 0.25 | 0 |
| PROMEDIO DE [mg/ml] | 0.079 | 0.098 | 0.290 | 0.000 |
| % DE INHIBICIÓN | 74.48 | 68.46 | 6.77 | 0.00 |

Fuente: Propia.

En la Figura N° 15, se puede observar el comportamiento de la actividad antioxidante de la pulpa de la *Ananas comosus* Lorenza en ella se puede determinar que la concentración inhibitoria mínima de 25% de actividad antioxidante es aproximadamente a 0.28 y la máxima concentración es a 2.0 mg/ml con un porcentaje de actividad de 74%.



Fuente: Propia.

FIGURA N° 15. Porcentaje de inhibición a las diferentes concentraciones de la pulpa de *Ananas comosus* (piña) - variedad Lorenza.

4.5.2.1 Evaluación de Fenoles Totales de pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad Lorenza.

Los fenoles totales de la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) en las variedades de Lorenza fueron cuantificados mediante la curva patrón del ácido gálico (ANEXO N° 17). En la Tabla N° 37, se muestra la forma de calcular y el contenido de fenoles totales en la cáscara de la variedad cayena liza en ella se puede observar el valor 64.74 ± 0.12 mg EAG/100 g muestra original, siendo un promedio de las mediciones.

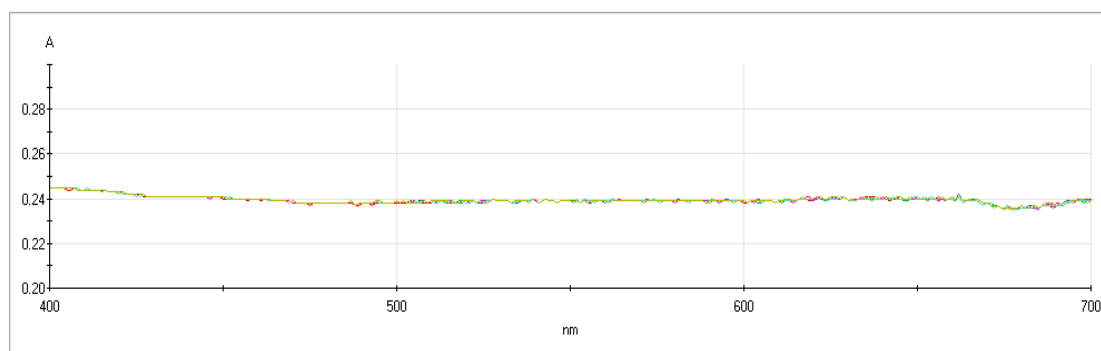
TABLA N° 37. Contenido de fenoles totales de la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad Lorenza.

| Tipo de muestra | Código | repetición n | Masa alicuota de extracto seco | Masa alicuota de extracto seco | Volumen enrasado 1 | Volumen enrasado 2 | factor de dilución | Alicuota en el tubo | lectura en el espectrofotómetro | concentración FT | concentración FT | concentración FT | concentración FT | MEDIA FT | DS | |
|-----------------|--------|--------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------------------|------------------|------------------|------------------|---------------------------------|------------------------------|--------|------------------------------|
| | | | (g) | (mg) | (ml) | (ml) | | (ml) | (ml) | Abs.765 nm | mgGAE/mL | mgGAE | mgGAE/mg Alicuota extracto seco | mgGAE/100 g muestra original | | mgGAE/100 g muestra original |
| | | | a | b = a*1000 | c | d | e | f = e/d | g | h | i = h/a | j = i * c | k = j / a | l = h/a | | |
| PULPA LORENZA 1 | 1 | R1 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.173 | 0.015 | 0.293 | 2.926 | 64.386 | 64.670 | 0.246 |
| | | R2 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.174 | 0.015 | 0.295 | 2.945 | 64.813 | | |
| | | R3 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.174 | 0.015 | 0.295 | 2.945 | 64.813 | | |
| PULPA LORENZA 2 | 2 | R1 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.174 | 0.015 | 0.295 | 2.945 | 64.813 | 64.813 | - |
| | | R2 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.174 | 0.015 | 0.295 | 2.945 | 64.813 | | |
| | | R3 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.200 | 0.174 | 0.015 | 0.295 | 2.945 | 64.813 | | |
| TOTAL | | | | | | | | | | | | | 64.74 | 0.12 | | |

Fuente: Propia.

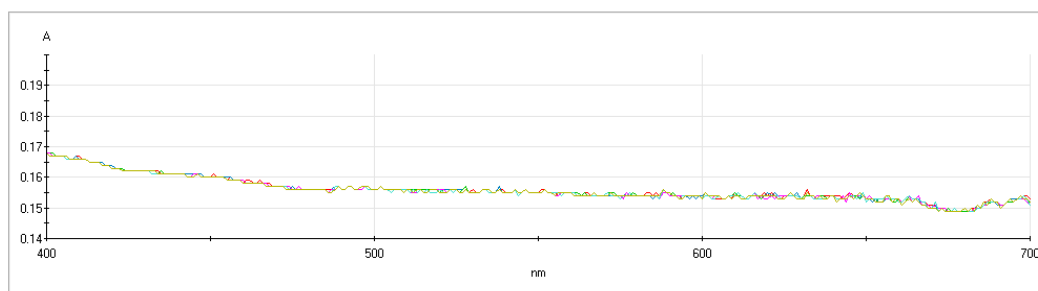
4.5.2.2 Evaluación de Antocianinas de la pulpa de la *Ananas Comosus* (Piña) - variedad Lorenza.

En las Figuras N° 16 y 17, se muestra el espectro de absorción a pH 4.5 y pH 1.0 del extracto etanólico de la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad cayena liza hecho por un barrido de absorción a λ de 400 a 700 nm, en ella se puede observar pequeñas absorciones en forma de picos que es característico de la presencia de antocianinas.



Fuente: Propia.

FIGURA N° 16. Absorción del extracto etanólico de la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad de Lorenza de 400 a 700 nm a pH 4.5 para la determinación de antocianinas.



Fuente: Propia.

FIGURA N° 17. Absorción del extracto etanólico de la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad de Lorenza de 400 a 700 nm a pH 1 para la determinación de antocianinas.

En la Tabla N° 38, se muestra las absorbancias de pequeños picos más representativos obtenidos entre 400 a 700 nm que aparecen en la Figuras 18 y 19 por triplicado de la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad de Lorenza de pH 1 y pH 4.5 y valores fijos a 700 nm a los pHs, la cantidad promedio obtenido de antocianinas aplicando la formula descrita en la metodología fue de 2.0579 ± 1.6 mg de cianidina-3-glucosido/100 g de muestra original.

TABLA N° 38. Absorciones y cálculo de antocianinas presentes en la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad lorenza.

| Tipo de muestra | Código | repetición | ABS = λ Vis-máx pH 1 | ABS = λ Vis-máx nm pH 4.5 | ABS = 700 nm pH 1 | ABS = 700 nm pH 4.5 | A = (a-c)-(b-d) | PM | FD | ϵ | L | Concentración de Antocianinas mgCianidina-3-glucosido/100 g amostra original | Media Antocianinas mgCianidina-3-glucosido/100 g amostra original | SD |
|-----------------|------------|------------|------------------------------|-----------------------------------|-------------------|---------------------|-----------------|-------|-----|------------------------|-----|--|---|--------|
| | | | (a) | (b) | (c) | (d) | | g/mol | | L/cm ² *mol | cm | | | |
| PULPA LORENZA | extracto 1 | R1 | 0.1570 | 0.2390 | 0.153 | 0.238 | 0.0030 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | 1.3229 | 2.0579 | 1.6695 |
| | | R2 | 0.1620 | 0.2380 | 0.153 | 0.238 | 0.0090 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | 3.9687 | | |
| | | R3 | 0.1560 | 0.2400 | 0.152 | 0.238 | 0.0020 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | 0.8819 | | |
| PULPA LORENZA | extracto 1 | R4 | 0.1570 | 0.2400 | 0.153 | 0.238 | 0.0020 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | 0.8819 | 0.4410 | 1.5899 |
| | | R5 | 0.1570 | 0.2390 | 0.152 | 0.238 | 0.0040 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | 1.7639 | | |
| | | R6 | 0.1560 | 0.2440 | 0.153 | 0.238 | -0.0030 | 449.2 | 3.0 | 26,900.0 | 1.0 | -1.3229 | | |
| TOTAL | | | | | | | | | | | | 1.25 | 1.63 | |

Fuente: Propia.

4.5.2.3 Evaluación de Flavonoides de la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad Lorenza.

Los flavonoides presentes en la pulpa de la especie de la *Ananas comosus* (piña) - variedad Lorenza fue determinado por absorción a $\lambda=415$ nm y no se encontró presencia, como se muestra en la tabla N° 39.

TABLA N° 39. Contenido de flavonoides presentes en la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) - variedad lorenza.

| Tipo de amostra | Código | repetición | ABSORBANCIA | PM g/mol | FD | ε L/cm* ² mol | L cm | Concentración de Flavonoides | | Media Flavonoides g quercetina/100 g amostra original | SD |
|-----------------|------------|------------|-------------|-------------|-------|-----------------------------|---------|-------------------------------------|-------------------------------------|--|----|
| | | | | | | | | g quercetina/100 g amostra original | g quercetina/100 g amostra original | | |
| PULPA LORENZA | extracto 1 | R1 | -0.001 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 | - | 0.08 | 0.08 | - |
| | | R2 | -0.001 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 | - | 0.08 | | |
| | | R3 | -0.001 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 | - | 0.08 | | |
| PULPA LORENZA | extracto 2 | R4 | -0.001 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 | - | 0.08 | 0.08 | - |
| | | R5 | -0.001 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 | - | 0.08 | | |
| | | R6 | -0.001 | 302.236 | 10.00 | 78.66 | 1.00 | - | 0.08 | | |
| TOTAL | | | | | | | | | | 0 | |

Fuente: Propia.

4.5.2.4 Evaluación de Taninos de la cáscara de la *Ananas Comosus* (Piña)- Variedad Lorenza.

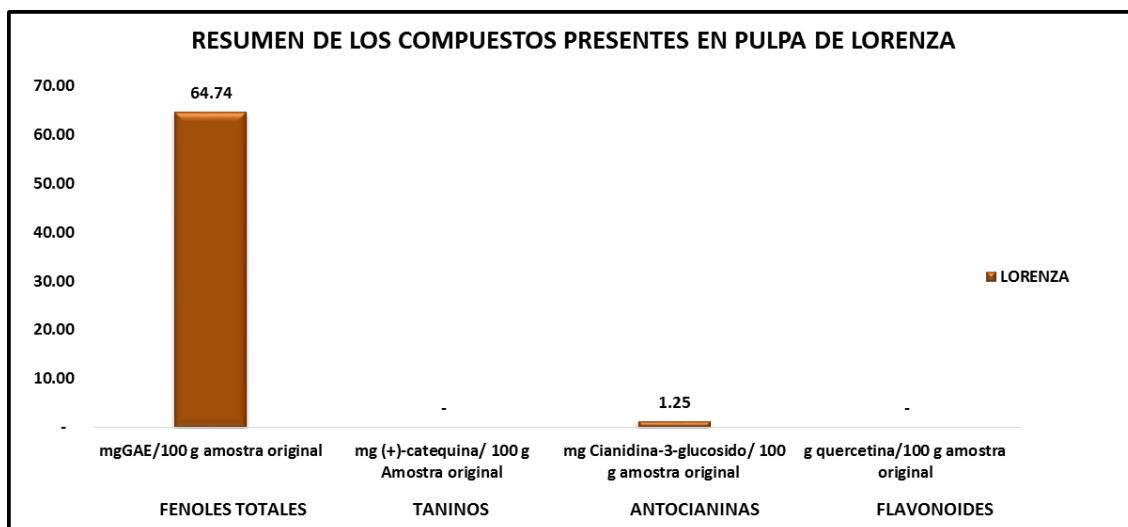
Los taninos condensados, fueron cuantificados mediante la ecuación de la curva estándar de taninos obtenido en las mismas condiciones que se obtuvieron de las muestras tal como se observa en la ANEXO N° 18, donde las concentraciones de 20, 40, 60, 80, 100 µg/ml ($y = 0.01063x + 0.00961$; $R^2 = 0.9964$) y la absorbancia respectiva medida a una $\lambda = 500$ nm, esta curva fue empleada para la determinación de taninos en la pulpa. La determinación de la presencia de taninos se muestra en la tabla N° 40 con un valor negativo, no hay presencia de taninos en muestra original.

TABLA N° 40. Contenido de taninos de la pulpa de la *Ananas comosus* (piña) variedad lorenza.

| Tipo de muestra | Código | repetición | Masa | Masa | Volumen Acertado 1 (ml) | Alicuota en el tubo (mL) | lectura en el Equipo | concentración taninos | concentración taninos | concentración taninos | concentración taninos | concentración taninos | concentración taninos | MEDIA concentración taninos | DS |
|-----------------|--------|------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------|--------------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|--|---|---|-----------------------------|----|
| | | | Alicuota del extrato seco (g) | Alicuota del extrato seco (mg) | | | Abs.500 nm | µg (+)-Catequina/mL | mg (+)-Catequina/mL | mg (+)-Catequina | mg (+)-catequina/g alicuota extrato seco | mg (+)-catequina/100 g Amostra original | mg (+)-catequina/100 g Amostra original | | |
| | | | a | b = a*1000 | c | e | f | g = @ | g = @ | h = g*c | i = h/b | j = h/a | | | |
| PULPA LORENZA 1 | 1 | R1 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | -0.014 | 2.221 | 0.002 | 0.044 | 0.444 | 9.775 | 9.775 | - | |
| | | R2 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | -0.014 | 2.221 | 0.002 | 0.044 | 0.444 | 9.775 | | | |
| | | R3 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | -0.014 | 2.221 | 0.002 | 0.044 | 0.444 | 9.775 | | | |
| PULPA LORENZA 2 | 2 | R1 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | -0.014 | 2.221 | 0.002 | 0.044 | 0.444 | 9.775 | 9.775 | - | |
| | | R2 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | -0.014 | 2.221 | 0.002 | 0.044 | 0.444 | 9.775 | | | |
| | | R3 | 0.1000 | 100.00 | 20.00 | 0.200 | -0.014 | 2.221 | 0.002 | 0.044 | 0.444 | 9.775 | | | |
| TOTAL | | | | | | | | | | | | | 0 | | |

Fuente: Propia.

4.5.2.5 Resumen de los Compuestos Fenólicos en pulpa de piña variedad de Lorena.

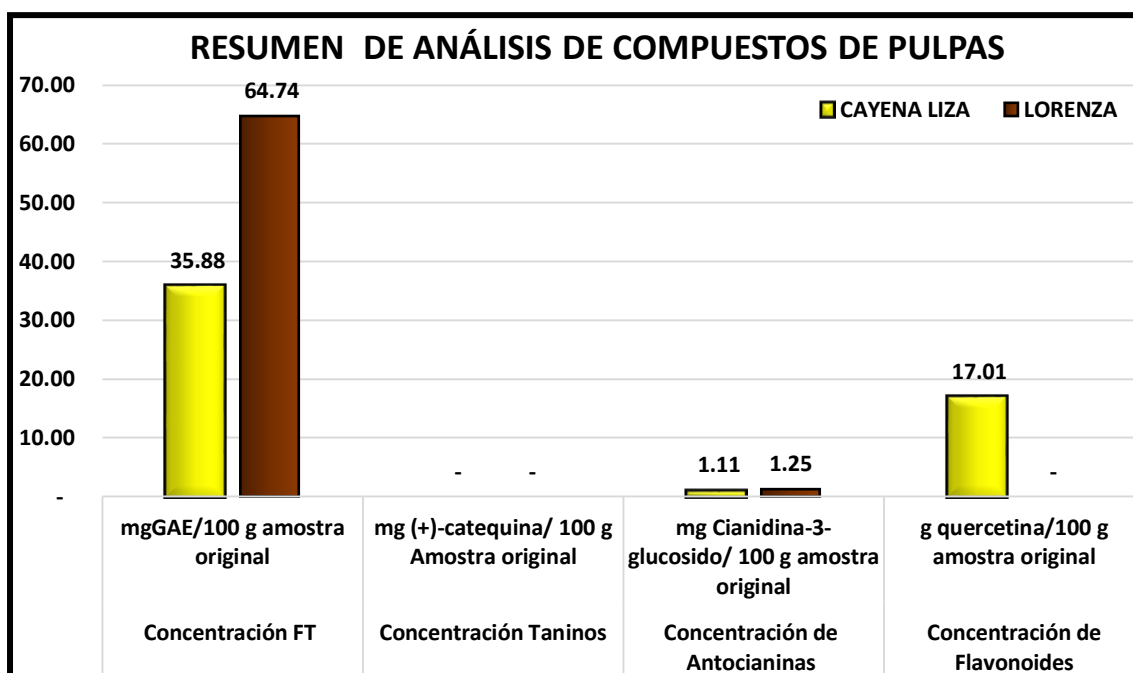


Fuente: Propia.

FIGURA N° 18. Resumen de compuestos fenólicos en pulpa de Piña variedad Lorena.

En la figura N° 18, muestra en mayor proporción fenoles totales con 64.74 mgGAE/100 g muestra original, seguidamente antocianinas con 1.25 mg cianidina-3-glucosido/100 g de muestra original, no se encontró taninos y flavonoides.

4.5.3 Comparación de Compuestos Fenólicos en pulpas de *Ananas comosus* en las variedades de Cayena liza y Lorenza.



Fuente: Propia.

FIGURA N° 19. Cuadro comparativo de compuestos fenólicos presentes en las pulpas de las variedades de cayena liza y lorenza.

En la figura N° 19. Muestra en mayor proporción Fenoles totales (35.88 mg EAG/100 g muestra original) en Piña Cayena liza y (64.74 ± 0.00 mg EAG/100 g muestra original) en Piña Lorenza, seguidamente de antocianinas (1.11 mg de cianidina-3-glucosido/100 g de muestra original) en cayena liza y (1.25 mg de cianidina-3-glucosido/100 g de muestra original) en lorenza, no se encontró taninos, para flavonoides (17.01 g quercetina/100g muestra original) en cayena liza y negativo en lorenza.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES.

De acuerdo los análisis fisicoquímicos realizados en *Ananas comosus* Piña la variedad de cayena liza y loreña se concluye que, el precursor de estos análisis es la vitamina "C", tanto para la cayena liza y loreña contienen una cantidad necesaria para que tenga capacidad antioxidante de 25.05 mg. En Cayena liza y 24.38 mg. En Loreña.

En los análisis microbiológicos que se realizó *Ananas comosus* Piña de las dos variedades se reportó resultados aceptables, indicando que la materia prima se encuentra apto para ser consumido por el ser humano.

En la determinación DPPH del comportamiento de la actividad antioxidante de la cáscara de la *Ananas comosus* Piña en las dos variedades, en el extracto etanólico se registró una curva de inhibición ascendente, indicando una mayor Actividad Antioxidante proporcional al incremento del extracto etanólico. Solo en las pulpas de la variedad cayena liza la actividad antioxidante sufre un pequeño descenso, mientras que en piña loreña la actividad antioxidante aumenta hasta volverse regular en un 74%.

Los responsables de la Actividad Antioxidante de la cáscara de *Ananas comosus* piña en la variedad de cayena liza, serían los fenoles totales y antocianinas, en caso de la cáscara de piña loreña se debe a los fenoles totales que tiene un valor más elevado que la cayena liza y en pequeñas cantidades a los taninos y flavonoides.

En la pulpa de cayena liza la capacidad antioxidante se debe a los fenoles totales, flavonoides y antocianinas; en la pulpa de piña loreña se debe a los fenoles totales que tiene un valor más elevado que la cayena liza seguidamente también de las antocianinas.

CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES

6. RECOMENDACIONES.

Es recomendable iniciar un estudio en el análisis cuantitativo de antioxidantes basándose en el porcentaje de piña comestible que favorecerían el desarrollo funcional de antioxidantes en nuestro organismo.

De acuerdo con los diferentes análisis realizados en nuestro trabajo de investigación, que servirá para posteriores investigaciones recomendamos seguir investigando las demás variedades de piña que se cultivan en nuestra región.

La investigación de nuevas especies de piña sería favorable para determinar cuál de estas es el mayor precursor de antioxidantes.

Es recomendable seguir detalladamente el proceso de los análisis en antioxidantes pues los resultados pueden complicarse teniendo valores negativos.

Es recomendable poder ejecutar los análisis en laboratorios equipados ampliamente con herramientas de vanguardia pues ayudará a tener resultados fiables y concretos.

CAPÍTULO VII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

ACEVEDO, B. MONTIEL, M. AVANZA, J. 2004. Estudio cinético de la degradación de la actividad antioxidante hidrosoluble de jugos cítricos por tratamiento térmico. D.F. México. México.

ACOSTA, R. DIAZ, B. 2016. Evaluación composicional, capacidad antioxidante de la pulpa y cáscara de la *Annona muricata* L. (guanábana). Tesis. UNAP. Iquitos.

ALMAJANO, M. 2009. Determinación de la actividad antioxidante de las bayas de goji. D.F. México. México.

A.O.A.C. 1996. Métodos Oficiales de Análisis de Alimentos. Mundi -Prensa. Madrid. España.

A.O.A.C. 1998. Métodos Oficiales de Análisis de Alimentos. Mundi -Prensa. Madrid. España.

3M Microbiology. Guía de Interpretación - Petrifilm Placas para Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales. 1-6 pág.

3M Microbiology. Guía de Interpretación - Petrifilm Placas para Recuento de *Salmonella*. 1-6 pág.

BADUIS. 2006. Química de los Alimentos. D.F. México. México.

BARBOSA KB, BRESSAN J, ZULET MA, MARTÍNEZ HERNÁNDEZ JA. Influence of dietary intake on plasma biomarkers of oxidative stress in humans. *An Sist Sanit Navar* 2008; 31:259-80.

BELLO, A. S. 1991. Cultivo de la piña en la selva central del Perú. INIAA Lima - Perú Serie Técnica Informe Técnico 0.2/2.3 N° 15.

BESERRA, M., MACHADO, P., CAMPOS, A., DO PRADO, G., DE CARVALHO, C., ARRAES, G., GOMES, T. (2011). Bioactive compounds and

antioxidant activity of fresh exotic fruits from north eastern Brazil. *Food Research International* 44 (7): 2155–2159.

BONATTI, J., BORGE, B., HERRERA, P. 2005. Efectos ecológicos del cultivo de la piña en la cuenca media del Río General-Térraba de Costa Rica. Informe Técnico No. 4. Elaborado por SEDER para TNC. San José, Costa Rica. 254 pp.

BRUNENTON, J. 2001. *Farmacognosia: Fitoquímica plantas medicinales*. 2a Ed. Zaragoza-España. Editorial; Acribia S.A.. 1099 p.

CAO, G. PIOR, R. 2000. Postprandial Increases in serum antioxidant capacity in older women. *J. Appl.* 89: 87.

CAROLINA CRIADO DABROWSKA, Manuel S. Moya Mir. 2009. *Vitaminas y Antioxidantes*. Saned - Madrid.

CASTAÑEDA DE PRETEL, P. 2003. Manual técnico: Seminario sobre producción y manejo post cosecha de la piña para la exportación. Proyecto VIFINEX. San Salvador. SV.

CASTILLO E. 2007. *Manual de fitoterapia*. S. ed. Barcelona. Elsevier Masson. Pp 33-87

C.E.N.A.N/I.N.S/M.S. 2009. *Tablas Peruanas de Composición de Alimentos*. VII. Lima. Perú.

COLLINS J. 1960. *The pineapple: Botany, Cultivation and Utilization*. Interscience Publishers. New York.

CONTRERAS CHACÓN, R. (2001). *Plan Estratégico de Exportación de Piña*. Universidad Agraria del Ecuador - Facultad de Economía Agrícola del Ecuador- Tesis de grado. Guayaquil-Ecuador.

COPPEN, P.P.1983.El uso de antioxidantes, enrancidez en los Alimentos, Allen, JC y Hamilton, RJ, Eds., Applied Science Publishing Company, Londres, 67-87

CORPORACIÓN PROEXANT - Promoción de Exportaciones Agrícolas No Tradicionales. Hoja técnica Piña – Pineapple. Quito

COVECA, Gobierno del Estado. (2002). *Diagnóstico de la cadena de la piña*. México, DF.

DE LA CRUZ, M.J. 2002. Operaciones postcosecha de la piña.

DENG J., CHENG W., YANG G. 2011. A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. *Food Chemistry*; 125: 1430–1435.

DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA. Ministerio de Agricultura Lima Perú 32

E. MARTA KUSKOSKI, AGUSTÍN G. ASUERO, ANA M. TRONCOSO JORGE MANCINI-FILHO, ROSEANE FETT, Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciênc. Technol. Aliment.*, Campinas, 25(4): 726-732, out.-dez. 2005

EROSKI CONSUMER 2015. Frutas. Propiedades de la Piña. Origen, variedades. Pag. 1-4. México.

FAO, 2010. Bases de datos de producción mundial y comercio internacional de piña.

FEDERACIÓN NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA. El cultivo de la Piña. Bogotá: FEDECAFÉ, 1987.

FIGUEROA R.; WARLF C.; FRANCIOSI R.; VAN O. 1970. El cultivo de la piña en el Perú. Estación Experimental Agrícola La Molina. Lima. MA. 35 p. (Boletín técnico N°75).

FINKEL T, HOLBROOK NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408:239-47.

FLANZY C. 2003. Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos. 2da ed. Madrid – España. Ediciones Mundi Prensa. 2003. Pp 114-125

GRYGLEWKIRJ, KORBUTR, ROBAKJ YSWIESJ. 1987. El mecanismo de la acción antitrombótica de flavonoides. *Biochem Pharmacol*, 36: 317-322.

HALLIWELL, B. (1992). Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now? *Journal of Laboratory Clinical Medical*, 119 (6), 598 - 620.

HALLIWELL B. Antioxidant Defense Mechanisms: From The Beginning To The End (of the beginning) *Free Radic Res* 1999; 31: 261-72.

HALLIWELL B, GUTTERIDGE J. (1998) Free Radicals in Biology and Medicine. 3rd Ed. Oxford Science Publications. Oxford. 936 pp.

HAVSTEEN B: Flavonoids. A class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharmacol*, 1983, 32:1141-1148.

HERNÁNDEZ M. PRIETO A. ELIO A. 1999. Plantas que contienen polifenoles. Antioxidantes dentro del estilo de vida. Centro de investigación biomédicas. D.F. México. México.

HOGAN, S.; CHUNG, H.; ZHANG, L.; LI, J.; LEE, Y.; DAI, Y. AND ZHOU, K. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin-rich extract from açai. *Food Chemistry* 118(2): 208-214, 2010.

ICMSF 2000. Microorganismos de los alimentos – Técnica de Análisis Microbiológicas. Acribia. Ed. S. A. España.

INIA. Dic 1997. El cultivo de la piña. Proyecto aumento de la productividad frutícola – PROFUT.

JANG M, Cai L, Udeani GO y Cols: Cancer chemo preventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*, 1997, 275:218-221.

JIMÉNEZ, D.J. 1999. Manual práctico para el cultivo de la piña de exportación 1ª ed. Cartago: Editorial Tecnológica de Costa Rica.

- KANG, H.J., CHAWLA, S.P., JO, C., KWON, J.H., BYUN, M.W. 2006. Studies on the development of functional powder from citrus peel, *Bioresource Technology* 97:614-620.
- LEAL F. 1989. Origin and taxonomy of the pineapple. *Interciencia*.
- LEE, C.Y. 1992. Phenolic Compounds en *Encyclopedia of food Science and Tecnology*. Vol 3. Hui, Y. H. (Editor), pp. 2055-2061. Wiley & Sons Inc., New York, EUA.
- LOCK O. 1997. *Colorantes Naturales*. Primera Edición. Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima, Perú. pp. 137-163.
- MACHEIX, J., FLEURIET, A. and BILLIOT, J. 1990. *Fruit Phenolics*. CRC Press, Inc. Boca Raton, Fl. EUA.
- MANFRED H., HERBERT M., BERND Z. 1999. *Métodos espectroscópicos en química orgánica*. 2ª Ed. Madrid-España. Editorial Síntesis S.A. 369 p.
- MARTÍNEZ A. 2005. *Flavonoides*. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. Medellín. 76 p
- MORAZÁN, Francisco. 2010. *Manual del cultivo de la piña-Escuela obrera campesina internacional*. Managua. pp 62.
- MUÑOZ A. ALVARADO F. URETA C. CASTAÑEDA B. 2007. *Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios*. D.F. México. México.
- MURILLO F. 2006. *Actividad antioxidante in vitro de las bebidas de frutas*. Instituto de Alimentación y Nutrición. Lima. Perú.
- OJHA H., MISHRA K., CHAUDHURY N.K. 2012. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*; 130: 1036-1043.

PALADINO, SILVIA CRISTINA (2008). Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vida.

PALADINOS. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la Vid (*Vitis vinífera* L.) Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, 2007, 76 p.

PAC, P. 2005. Experiencias en el Cultivo de Piña (*Annanas comosus* (L) Merr.) con el Híbrido MD-2 en Finca la Plata, Coatepeque, Quetzal Tenango. Universidad de San Carlos de Guatemala.

PACE-ASCIAC CR, HAHN S, DIAMANDIS EP, SOLEAS G y GOLDBERG DM.: The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation in eicosanoid synthesis: implication for protection against coronary heart disease. *Clin Chim Acta*, 1995, 235:207-219.

PERES W: Radicais Livres em níveis biológicos. Ed. Universidade Católica de Pelotas, Brasil, 1994, 49-81.

PY, C.; GUYOT, A. 1970. La floraison controle de l'ananas par l'éthrel, nouvea regulator de croissance (1ère partie). *Fruits* 25.

REYES, R. 1999. Manual técnico: Buenas prácticas en el cultivo de la piña. Panamá. Consultado 18 de febrero 2009.

RIBEIRO DA SILVA, L., Teixeira de Figueiredo, E., Silva, N., Pinto, I., Wilane de Figueiredo, R., Montenegro, I., Gomes, C. (2014). Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry* 143: 398 - 404.

RIVAS G, GARCÍA A. 2002. Flavonoides en alimentos vegetales: estructura y actividad antioxidante. *Nutrición y bromatología*, Facultad de farmacia. Salamanca. D.F. México. México.

ROHRBACH, K. & LEAL, F. & COPPENS D'EECKENBRUGGE, G. (2003). "History, Distribution and World Production". The Pineapple: Botany, Production and Uses. CAB Internacional.

ROBARDS K, PRENTZLER PD, TUCKER G, SWATSITANG P, GLOVER W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. Food Chem. 66:401-436

ROBLES M. GORINSTEIN S. MARTÍN O. ASTIAZARÁN H. GÓNZÁLEZ G. CRUZ R. 2007. Frutos tropicales mínimamente procesados: potencial antioxidante y su impacto en la salud. D.F. México. México.

SAMANIEGO M. 2007, Evaluación de la actividad Antimicrobiana y antioxidante de Matico para la elaboración de un fitofármaco. Facultad de ciencias, escuela de Bioquímica Farmacia. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba - Ecuador. Tesis. Pp. 36-37.

SAMSON, J.A. 1991. Fruticultura Tropical. Editorial Limusa, S.A. Mexico.

SANCHÉZ, V. (2005). *Tendencias actuales de la cadena agro-industrial de la piña en la región del bajo Papaloapan*. México

SATUÉ-GARCIA, M.T.; HEINOMEN, M.; FRANKEL, E.N. 1997. Anthocyanin as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin-liposome systems. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Easton, v. 45, n. 9, p. 3362-3367.

SCALBERT, A. And WILLIAMSON, G. 2000. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. Journal of Nutrition. 130: 2073s-2085s

SERVICIO NACIONAL DE APRENDIZAJE, SENA. Comercialización de Frutas y Hortalizas. Divulgación de la tecnología de Mercadeo. Neiva: s.n., 1990.

SINGLETON VL: Flavonoids En: Childester CO, Mrak EM, Stewart Gf (eds.): Advances in Food Research. New York: Academic Press, 1981, 149-242.

SESTILIP, DIAMANTINIG, BEDINIY COLS. 2002. Planta derivado fenólico compuestos impiden que el ADN de una sola hebra de rotura y la citotoxicidad inducida por terc-butilo a través de una plancha-quelante mecanismo. *BiochemJ.* 364: 121-128

SHAHIDI, F., & NACZK, M. 2004. Phenolics in food and nutraceuticals (pp. 1-558). Boca Raton, FL: CRC Press.

SHEKELLE P, HARDY ML, COULTER I, UDANI J, SPAR M, ODA K, et al. Effect of the supplemental use of antioxidants vitamin C, vitamin E, and coenzyme Q10 for the prevention and treatment of cancer. *Evid Rep Technol Assess (Summ)* 2003; 75:1-3.

SHERWIN, E.R. 1978. La oxidación y antioxidantes en el tratamiento de la grasa y el aceite. *J. Am. Chem Oil. Soc.*, 55: 809 a 814.

SISTEMA DE INTELIGENCIA DE MERCADOS. *Perfil de producto Piña*. Corporación Colombia Internacional -Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia. Bogotá

SMITH, L. B. y DOWNS R. J. 1979. Bromelioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica. Monogr.* 14(3):1493-2142.

SOTEROS.V.E., GARCIA DE SOTERO D.E.2009. Manual de análisis Químico de Alimentos, 1ª Edición, Edit, CONCYTEC, Iquitos-Perú, Pág.7- 8.

SUN J, CHU Yf, WU X, LIU RH. Actividades antioxidantes y antiproliferativas de algunas frutas Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. Departamento de Ciencia de los Alimentos de la Universidad de Cornell, Ithaca, New York 14853- 7201, EE.UU. *J Agric Food Chem.* 04 de diciembre 2002, 50 (25): 7449-54.

TABLAS PERUANAS DE COMPOSICIÓN DE ALIMENTOS / Elaborado por María Reyes García; Iván Gómez-Sánchez Prieto; Cecilia Espinoza Barrientos; Fernando Bravo Rebatta y Lizette Ganoza Morón. - 8.ª ed. -- Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2010. 64 p.: 29,7 x 21,0 cm.

TOVAR J.2013. Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en el eco-región cafetera. Trabajo de grado. Universidad Tecnológica de Pereira-Facultad de tecnología. Colombia. 150p.

TORRES G, 2012. Determinación de la actividad antioxidante de los extractos cloroformico, etanólico y acuoso del arrayan, calaguala, canayuyo y tipo. Escuela Superior Politecnica de Chimborazo. Facultad de ciencias, escuela de Bioquímica Farmacia. Riobamba - Ecuador. Tesis. Pp. 25-33.

UNIDAD TÉCNICA DE ESTUDIOS PARA LA INDUSTRIA - UTEPI, 2006. Piña. Estudio Agroindustrial en el Ecuador: Competitividad de la Cadena de Valor y Perspectivas de Mercado. Quito.

VALDÉS F. 2006. Vitamina C. Unidad de Dermatología. Hospital da Costa. Burela Lugo. España.

VILLANO, D.; FERNÁNDEZ-PACHÓN, M.S.; MOYÁ, M.L.; TRONCOSO, A.M.; GARCIA PADILLA, M.C. 2007. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, New York, v. 71, n. 1, p. 230-235.

WANG, H., CAO, G., & PRIOR, RONALD, (1996). Total Antioxidant Capacity of Fruits. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 44(3), 701-705.

WEKAM, N.S.1990. Food of Hawaii and the Pacific Basin. Fruits and fruit products. Raw, processes and prepared. v. 4 Composition. Research Extension Series110. College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii, Honolulu.

CAPÍTULO VIII: ANEXOS

8. ANEXOS.

ANEXO N° 01. Norma Sanitaria de Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los alimentos y Bebidas de consumo humano (2008).

| Grupo: XIV. -Frutas y hortalizas frescas semi - procesadas (lavadas, desinfectadas, peladas, cortadas y/o pre - cocidas) refrigeradas y/o congeladas. | | |
|---|-----------------------|-----------------|
| Agente microbiano | Límite por gramo | |
| | m | M |
| Aerobios mesófilos | 10 ⁴ | 10 ⁶ |
| <i>Escherichia coli</i> | 10 | 10 ² |
| <i>Salmonella sp.</i> | Ausencia en 25 gramos | - |

Fuente: MINSA/DIGESA - IVTS/N° 071.2008.

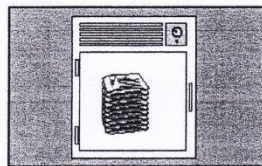
ANEXO N° 02. Procedimientos realizados en el análisis de la calidad microbiológica de las muestras.

3M Placas Petrifilm^{MR} para el Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales

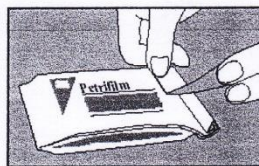
Recomendaciones de uso

Para detallar información sobre PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTÍA / GARANTÍA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, e INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.

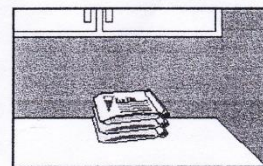
ALMACENAMIENTO



1 Almacene los paquetes cerrados a una temperatura \leq a 8°C (48°F). Las placas deben usarse antes de su fecha de expiración. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se temperen a la temperatura del lugar de trabajo antes de abrirlos.



2 Para cerrar un paquete abierto, doble el envoltorio y colóquelo una cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y por lo tanto alteración de las placas.

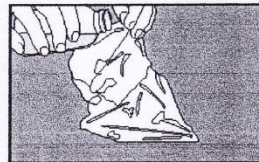


3 Mantenga los paquetes cerrados (según se indica en el punto 2) a temperaturas \leq a 25°C (77°F) y una humedad relativa \leq 50%. No refrigere los paquetes que ya han sido abiertos. Utilice las placas Petrifilm^{MR} máximo 1 mes después de abierto el paquete. Para almacenamiento prolongado de paquetes abiertos, una vez cerrados (según punto 2) colóquelo en un contenedor sellable (tipo funda con cierre) y almacénelo en congelación, para usar las placas saque el paquete del congelador, retire el número de placas necesarias y guarde en las mismas condiciones antes descritas.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

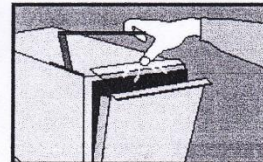


4 Prepare al menos una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pipetee la muestra en una funda o bolsa de Stomacher, botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril usual.



5 Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón Butterfield (tampón IDF fosfato, 0.0425 g/l de KH₂PO₄ y con pH ajustado a 7.2), agua de peptona al 0.1%, diluyente de sal peptona (método ISO 6887), Buffer de agua de peptona (método ISO 6579), solución salina (0.85 a 0.90%), caldo letheen libre de bisulfato o agua destilada.

No utilice buffer que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento.

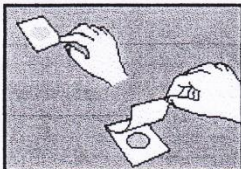


6 Mezcle u homogeneice la muestra mediante los métodos usuales.

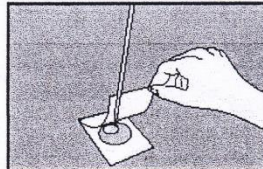
Ajuste el pH de la muestra diluida entre 6.8 y 7.2.

Para productos ácidos: use solución 1N de Na OH
Para productos básicos: use solución 1N de HCl

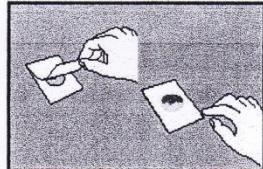
INOCULACIÓN



7 Coloque la Placa Petrifilm^{MR} en una superficie plana y nivelada. Levante la lámina semitransparente superior.



8 Con la pipeta perpendicular a la Placa Petrifilm^{MR} coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.

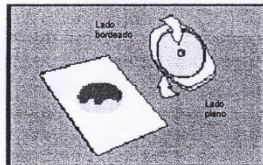


9 Cuidadosamente deslice la película hacia abajo evitando atrapar burbujas de aire. No deje caer la película superior.

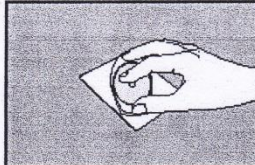
3M Placas Petrifilm^{MR}

para el Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales

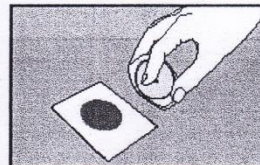
Recomendaciones de uso



10 Con el lado plano hacia abajo coloque el dispensador o esparcidor sobre la película superior, como atrapando el inóculo.



11 Presione suavemente el dispensador o esparcidor para distribuir el inóculo sobre la área circular. No gire, ni deslice el dispensador. Recuerde distribuir el inóculo antes de inocular una siguiente placa.



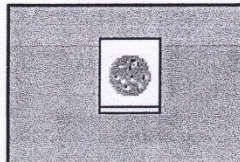
12 Levante el dispensador o esparcidor. Espere por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y proceda a la incubación.

INCUBACIÓN

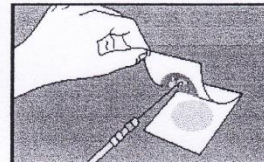


13 Incube las placas cara arriba en grupos de hasta 20 unidades de altura. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

INTERPRETACIÓN



14 Las placas Petrifilm^{MR} pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo lupa con luz. Referirse a la Guía de interpretación para leer los resultados.



15 Las colonias pueden ser aisladas para identificación posterior. Levante el film superior y repicar la colonia del gel.

El tiempo de incubación y la temperatura varían según el método. Los métodos comúnmente aprobados son:

- **AOAC método oficial 991.14**
Para Coliformes:
Incubar 24 hrs. (+/- 2 hrs) a 35°C (+/- 1°C)
Para *E. coli*:
Incubar 48 hrs. (+/- 2 hrs) a 35°C (+/- 1°C)
- **AOAC método oficial 998.08**
Para *E. coli* (carnes aves y mariscos)
Incubar 24 hrs. (+/- 2 hrs) a 35°C (+/- 1°C)
- **NMK método 147.1993**
Para Coliformes:
Incubar 24 hrs. (+/- 2 hrs) a 37°C (+/- 1°C)
Para *E. coli*:
Incubar 48 hrs. (+/- 2 hrs) a 35°C (+/- 1°C)

Comentarios adicionales:

Si tiene preguntas llame al 1-651-733-7562 o al Representante de Ventas 3M más cercano a usted

3M Microbiology
3M center, Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1800-228-3957
microbiology@mmm.com
www.3m.com/microbiology

Petrifilm es una marca registrada de 3M
Impreso en:
Revisión: 2003-04
Referencia: 70-2008-81053
© 3M

3M™ Petrifilm™ Salmonella Express System

Suplemento para el Medio



1 Pese aseptícamente la cantidad apropiada del 3M™ Suplemento para Enriquecimiento de *Salmonella*

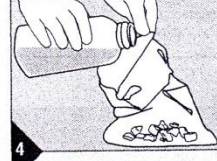
Procedimiento de Enriquecimiento



2 Agregue de manera aseptica el 3M™ Suplemento para Enriquecimiento de *Salmonella* a la cantidad apropiada de 3M Enriquecimiento Base para *Salmonella*, preparado y esterilizado en el autoclave.

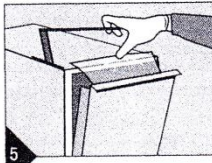


3 Prepare la dilución del producto alimenticio. Pese o agregue con pipeta el producto alimenticio dentro de un contenedor estéril, tal como una bolsa para homogeneizador u otro contenedor.

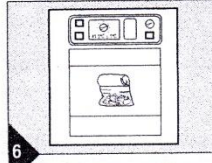


4 Agregue una cantidad apropiada de la combinación de 3M Enriquecimiento Base para *Salmonella* más el 3M Suplemento para Enriquecimiento de *Salmonella* a la bolsa o el contenedor de la muestra.

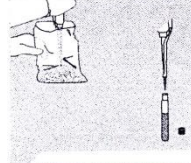
Procedimiento de Enriquecimiento cont.



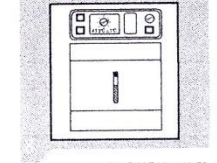
5 Mezcle u homogenice la muestra según el procedimiento actual.



6 Incube las muestras enriquecidas a $41,5^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante de 18 a 24 horas. Para las muestras con niveles bajos de contaminación microbiológica ($<104\text{ CFU/g}$), vaya al Paso 13a después de realizar primero los Pasos 9 a 12.

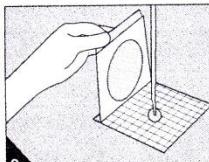


Solo para las muestras con niveles altos de contaminación microbiológica ($>104\text{ CFU/g}$). Después de la incubación del enriquecimiento, transfiera 0.1 mL a 10 mL de R-V R10.



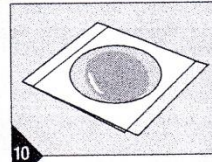
Incube el caldo R-V R10 a $41,5^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 8 a 24 horas. Vaya al Paso 13b después de realizar primero los Pasos 9 a 12.

Procedimiento de Hidratación

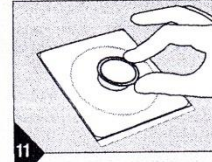


9 Nota: Las placas hidratadas se pueden almacenar a temperatura ambiente ($20-25^{\circ}\text{C}$), protegidas de la luz, hasta 8 horas antes de su uso. Si las placas hidratadas no se van a usar dentro de las 8 horas, consulte las "Instrucciones de uso" para obtener información sobre las condiciones de almacenamiento.

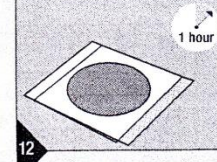
Coloque la Placa 3M Petrifilm SALX sobre una superficie nivelada y plana. Con la pipeta perpendicular a la placa, coloque 2.0 mL de diluyente estéril sobre el centro de la película inferior.



10 Deje caer suavemente la película superior sobre el diluyente para evitar atrapar burbujas de aire.

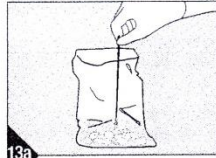


11 Coloque el Difusor Plano 3M Petrifilm en el centro de la placa. Presione ligeramente el centro del difusor para distribuir el diluyente de manera uniforme. Distribuya el diluyente en toda el área de desarrollo de la Placa 3M Petrifilm SALX antes de que se forme el gel. No destique el difusor a través de la película.

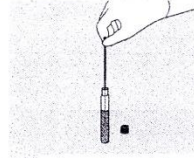


12 Coloque la Placa 3M Petrifilm SALX en una superficie plana durante al menos 1 hora a temperatura ambiente ($20-25^{\circ}\text{C}$), protegida de la luz, para que se forme el gel.

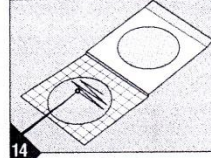
Inoculación, Incubación e Interpretación de la Placa.



13a Para las muestras con niveles bajos de contaminación microbiológica, use un asa estéril de 10 µL y retire el volumen completo del asa. Utilice una asa suave (una que no tenga bordes dentados y que no esté deformada) para evitar que la superficie del gel se resquebraje.



Para las muestras con niveles altos de contaminación microbiológica, use un asa estéril de 10 µL y retire un volumen completo de muestra a fin de sembrar por estrado en la placa.

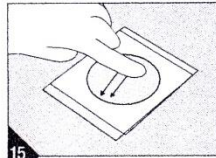


14 Realice una sola siembra por estrado, desde la parte superior hasta la parte inferior de la placa, para obtener colonias aisladas.

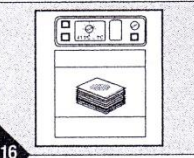
Ejemplo
Asa de 10µL (3mm de diámetro)



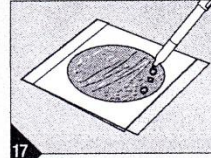
Inoculación, Incubación e Interpretación de la Placa cont.



15 Baje la película superior para cerrar la Placa 3M Petrifilm SALX. Asegúrese de que usa guantes (emplear las buenas prácticas de laboratorio para evitar contaminación cruzada o el contacto directo con la placa), aplique un movimiento suave de presión constante sobre la película superior para retirar todas las burbujas de aire del área de inoculación.

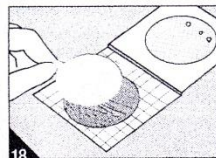


16 Incube las placas a 41,5° ± 1 °C durante 24 ± 2 horas en posición horizontal con el lado coloreado hacia arriba en pilas de no más de 20 placas.

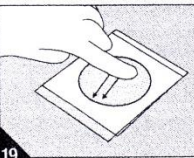


17 En la película superior de la Placa 3M Petrifilm SALX, marque con círculos las colonias aisladas presuntivas positivas de *Salmonella* usando un marcador permanente de punta fina. Confirme bioquímicamente todos los resultados presuntivos positivos de *Salmonella* mediante el uso del Disco de Confirmación 3M Petrifilm SALX.

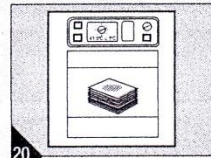
Confirmación Bioquímica



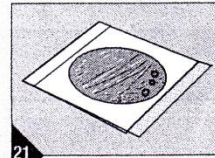
18 Retire de su bolsa un Disco de Confirmación 3M Petrifilm SALX empacado individualmente y permita que llegue a temperatura ambiente. Abra el paquete para exponer la lengüeta del disco, jalela y retire el disco. Levante la película superior (con las colonias presuntivas de *Salmonella* ya marcadas) de la Placa 3M Petrifilm SALX e inserte el disco sobre el gel en forma tal que se evite atrapar burbujas de aire. Cierre la placa.



19 Asegúrese de que usa guantes y deslice suavemente sus dedos con un movimiento de barrido a una presión constante sobre la película superior para retirar todas las burbujas de aire del área de inoculación, y asegure un buen contacto entre el gel y el Disco de Confirmación 3M Petrifilm SALX.



20 Incube el sistema 3M Petrifilm *Salmonella* Express (placa y disco) a 41,5° ± 1 °C de 4 a 5 horas. Ejemplo



21 Retire el sistema 3M Petrifilm *Salmonella* Express de la incubadora y proceda a leer los resultados. Mira solo las colonias marcadas con un círculo.

ANEXO N° 03. Resultados de los análisis microbiológicos realizados a la *Ananas comosus* Piña en la variedad de cayena liza.



UNAP

Facultad de
Industrias Alimentarias
Planta Piloto
Centro de Prestación de Servicio en Control de
Calidad de Alimentos.
"CEPRESE COCAL"

Laboratorio de Microbiología de Alimentos

INFORME DE ENSAYO N° 001-2016

I. DATOS DEL SOLICITANTE

| | |
|-----------|--|
| Nombre | JERSON D. CONTRERAS TAMANI LINKER TAMANI MURAYARI |
| Dirección | -- |
| Telefax | -- |

II. DATOS DEL SERVICIO

| | |
|--------------------------------|-------------------------|
| N° de solicitud de servicio | 1/2016 |
| Fecha de solicitud de servicio | 11/01/16 |
| Servicio solicitado | Análisis Microbiológico |

II. DATOS DEL PRODUCTO

| | |
|-----------------------|----------------------------------|
| Nombre del producto | <i>Pulpa de Piña</i> |
| Numero de muestra | UNO (01) |
| Código de muestra | 01 |
| Tamaño de muestra | 500 Gr. |
| Código | "F" |
| Muestra | Traída por el cliente |
| Forma de presentación | Envasado en bolsa de polietileno |
| Fecha de producción | -- |
| Fecha de vencimiento | -- |

IV. RESULTADOS DEL ENSAYO

| ENSAYO MICROBIOLÓGICO | RESULTADOS |
|--------------------------|-------------------|
| Escherichia coli (NMP/g) | < 10 |
| Salmonella sp. | Ausencia en 25 g. |



Dirección: calle Freyre N° 610, Iquitos, Perú
Teléfono: (5165)234458, 242922 Telefax: (5165)242001

www.unapiquitos.edu.pe



UNAP

**Facultad de
Industrias Alimentarias
Planta Piloto**

Centro de Prestación de Servicio en Control de
Calidad de Alimentos.
"CEPRESE COCAL"

METODOS USADOS

- Recuento de Microorganismos Coliformes/*Escherichia coli*. Mediante técnica petrifilm AOAC. Método oficial 991.14
- Investigación de *Salmonella* sp. FDA. 1992.

NOTA:

- Se prohíbe la reproducción total o parcial del presente documento, sin la autorización de CEPRESE - COCAL FIA-UNAP (Laboratorios).

Iquitos, 20 de Enero 2016

Blga. JESSY P. VASQUEZ CHUMBE
Jefa del Laboratorio de Microbiología de
Alimentos FIA -UNAP



Dirección: calle Freyre N° 610, Iquitos, Perú
Teléfono: (5165)234458, 242922 Telefax: (5165)242001

www.unapiquitos.edu.pe

ANEXO N° 04. Resultados de los análisis microbiológicos realizados a la *Ananas comosus* Piña en la variedad de lorenza.



UNAP

Facultad de
Industrias Alimentarias
Planta Piloto
Centro de Prestación de Servicio en Control de
Calidad de Alimentos.
"CEPRESE COCAL"

Laboratorio de Microbiología de Alimentos

INFORME DE ENSAYO N° 002-2016

I. DATOS DEL SOLICITANTE

| | |
|-----------|--|
| Nombre | JERSON D. CONTRERAS TAMANI LINKER TAMANI MURAYARI |
| Dirección | -- |
| Telefax | -- |

II. DATOS DEL SERVICIO

| | |
|--------------------------------|-------------------------|
| N° de solicitud de servicio | 2/2016 |
| Fecha de solicitud de servicio | 11/01/16 |
| Servicio solicitado | Análisis Microbiológico |

III. DATOS DEL PRODUCTO

| | |
|-----------------------|----------------------------------|
| Nombre del producto | <i>Pulpa de Piña</i> |
| Numero de muestra | UNO (01) |
| Código de muestra | 02 |
| Tamaño de muestra | 520 Gr. |
| Código | "G" |
| Muestra | Traida por el cliente |
| Forma de presentación | Envasado en bolsa de polietileno |
| Fecha de producción | -- |
| Fecha de vencimiento | -- |

IV. RESULTADOS DEL ENSAYO

| ENSAYO MICROBIOLÓGICO | RESULTADOS |
|--------------------------|-------------------|
| Escherichia coli (NMP/g) | < 10 |
| Salmonella sp. | Ausencia en 25 g. |



Dirección: calle Freyre N° 610, Iquitos, Perú
Teléfono: (5165)234458, 242922 Telefax: (5165)242001

www.unapiquitos.edu.pe



UNAP

**Facultad de
Industrias Alimentarias
Planta Piloto**
Centro de Prestación de Servicio en Control de
Calidad de Alimentos.
"CEPRESE COCAL"

METODOS USADOS

- Recuento de Microorganismos Coliformes/*Escherichia coli*. Mediante técnica petrifilm AOAC. Método oficial 991.14
- Investigación de *Salmonella* sp. FDA. 1992.

NOTA:

- Se prohíbe la reproducción total o parcial del presente documento, sin la autorización de CEPRESE – COCAL FIA-UNAP (Laboratorios).

Iquitos, 20 de Enero 2016

Blga. JESSY P. VASQUEZ CHUMBI
Jefa del Laboratorio de Microbiología de
Alimentos FIA -UNAP



Dirección: calle Freyre N° 610, Iquitos, Perú
Teléfono: (5165)234458, 242922 Telefax: (5165)242001

www.unapiquitos.edu.pe

ANEXO N° 05. Absorbancia del extracto de la cáscara de *Ananas comosus* piña variedad cayena liza, con el método DPPH.

| Número de lecturas | Solución DPPH (1 mM) | Extracto etanólico cáscara de <i>Ananas comosus</i> (muestra-seca) primera lectura | | | | |
|-----------------------------|----------------------|--|--------------|--------------|--------------|---------------|
| | | Concentraciones - cayena lisa | | | | |
| | | 5 mg/ml | 0.5 mg/ml | 0.1 mg/ml | 0.05 mg/ml | 0.01 mg/ml |
| 1 | 0.312 | 0.023 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.507 |
| 2 | 0.311 | 0.022 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.507 |
| 3 | 0.311 | 0.022 | 0.113 | 0.078 | 0.062 | 0.506 |
| 4 | 0.311 | 0.021 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 5 | 0.311 | 0.021 | 0.112 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 6 | 0.311 | 0.020 | 0.113 | 0.078 | 0.062 | 0.506 |
| 7 | 0.311 | 0.020 | 0.112 | 0.078 | 0.062 | 0.506 |
| 8 | 0.310 | 0.019 | 0.112 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 9 | 0.311 | 0.019 | 0.113 | 0.078 | 0.082 | 0.506 |
| 10 | 0.311 | 0.018 | 0.112 | 0.078 | 0.082 | 0.507 |
| Promedio | 0.311 | 0.021 | 0.113 | 0.079 | 0.066 | 0.506 |
| Porcentaje de Inhibición, % | | 93.41 | 63.79 | 74.76 | 78.78 | -62.80 |

Fuente: Propia.

| Número de lecturas | Solución DPPH (100uM) | Extracto etanólico cáscara de <i>Ananas comosus</i> (muestra-seca) segunda lectura | | | | |
|-----------------------------|-----------------------|--|--------------|--------------|--------------|---------------|
| | | Concentraciones | | | | |
| | | 5 mg/ml | 0.5 mg/ml | 0.1 mg/ml | 0.05 mg/ml | 0.01 mg/ml |
| 1 | 0.312 | 0.023 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.507 |
| 2 | 0.311 | 0.022 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.507 |
| 3 | 0.311 | 0.022 | 0.113 | 0.078 | 0.062 | 0.506 |
| 4 | 0.311 | 0.021 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 5 | 0.311 | 0.021 | 0.112 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 6 | 0.311 | 0.020 | 0.113 | 0.078 | 0.062 | 0.506 |
| 7 | 0.311 | 0.020 | 0.112 | 0.078 | 0.062 | 0.506 |
| 8 | 0.310 | 0.019 | 0.112 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 9 | 0.311 | 0.019 | 0.113 | 0.078 | 0.082 | 0.506 |
| 10 | 0.311 | 0.018 | 0.112 | 0.078 | 0.082 | 0.507 |
| Promedio | 0.311 | 0.021 | 0.113 | 0.079 | 0.066 | 0.506 |
| Porcentaje de Inhibición, % | | 93.41 | 63.79 | 74.76 | 78.78 | -62.80 |

Fuente: Propia.

| Número De Lecturas | Solución DPPH (100 uM) | Extracto etanólico cáscara de <i>Ananas comosus</i> (muestra-seca) tercera lectura | | | | |
|--------------------------------|------------------------------|---|--------------|--------------|---------------|---------------|
| | | Concentraciones | | | | |
| | | 5 mg/ml | 0.5 mg/ml | 0.1 mg/ml | 0.05 mg/ml | 0.01 mg/ml |
| 1 | 0.312 | 0.023 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.507 |
| 2 | 0.311 | 0.022 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.507 |
| 3 | 0.311 | 0.022 | 0.113 | 0.078 | 0.062 | 0.506 |
| 4 | 0.311 | 0.021 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 5 | 0.311 | 0.021 | 0.112 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 6 | 0.311 | 0.020 | 0.113 | 0.078 | 0.062 | 0.506 |
| 7 | 0.311 | 0.020 | 0.112 | 0.078 | 0.062 | 0.506 |
| 8 | 0.310 | 0.019 | 0.112 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 9 | 0.311 | 0.019 | 0.113 | 0.078 | 0.082 | 0.506 |
| 10 | 0.311 | 0.018 | 0.112 | 0.078 | 0.082 | 0.507 |
| Promedio | 0.311 | 0.021 | 0.113 | 0.079 | 0.066 | 0.506 |
| Porcentaje de Inhibición, % | | 93.41 | 63.79 | 74.76 | 78.78 | -62.80 |

Fuente: Propia.

ANEXO N° 06. Absorbancia del extracto de la cáscara de *Ananas comosus* piña variedad lorenza, con el método DPPH.

| Número de lecturas | Solución DPPH (1 mM) | Extracto etanólico cáscara de <i>Ananas comosus</i> (muestra-seca) primera lectura | | | | |
|--------------------------------|----------------------------|---|--------------|--------------|--------------|---------------|
| | | Concentraciones - lorenza | | | | |
| | | 5 mg/ml | 0.5 mg/ml | 0.1 mg/ml | 0.05 mg/ml | 0.01 mg/ml |
| 1 | 0.312 | 0.023 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.507 |
| 2 | 0.311 | 0.022 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.508 |
| 3 | 0.311 | 0.022 | 0.113 | 0.078 | 0.062 | 0.506 |
| 4 | 0.311 | 0.021 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 5 | 0.311 | 0.021 | 0.113 | 0.078 | 0.062 | 0.506 |
| 6 | 0.311 | 0.021 | 0.112 | 0.078 | 0.062 | 0.506 |
| 7 | 0.311 | 0.020 | 0.112 | 0.078 | 0.062 | 0.507 |
| 8 | 0.310 | 0.020 | 0.112 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 9 | 0.311 | 0.019 | 0.113 | 0.078 | 0.123 | 0.506 |
| 10 | 0.311 | 0.018 | 0.113 | 0.078 | 0.123 | 0.507 |
| Promedio | 0.311 | 0.021 | 0.113 | 0.078 | 0.074 | 0.507 |
| Porcentaje de Inhibición, % | | 93.34 | 63.76 | 74.79 | 76.14 | -62.86 |

Fuente: Propia.

| Número de lecturas | Solución DPPH (100uM) | Extracto etanólico cáscara de <i>Ananas comosus</i> (muestra-seca) segunda lectura | | | | |
|-----------------------------|-----------------------|--|--------------|--------------|--------------|---------------|
| | | Concentraciones | | | | |
| | | 5 mg/ml | 0.5 mg/ml | 0.1 mg/ml | 0.05 mg/ml | 0.01 mg/ml |
| 1 | 0.312 | 0.023 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.507 |
| 2 | 0.311 | 0.022 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 3 | 0.311 | 0.022 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 4 | 0.311 | 0.021 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 5 | 0.311 | 0.021 | 0.112 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 6 | 0.311 | 0.020 | 0.113 | 0.078 | 0.062 | 0.506 |
| 7 | 0.311 | 0.020 | 0.112 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 8 | 0.311 | 0.019 | 0.112 | 0.078 | 0.062 | 0.506 |
| 9 | 0.310 | 0.019 | 0.113 | 0.078 | 0.062 | 0.506 |
| 10 | 0.311 | 0.018 | 0.112 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| Promedio | 0.311 | 0.021 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| Porcentaje de Inhibición, % | | 93.41 | 63.79 | 74.69 | 80.06 | -62.73 |

Fuente: Propia.

| Número De lecturas | Solución DPPH (100 uM) | Extracto etanólico cascara de <i>Ananascomosus</i> (muestra-seca) tercera lectura | | | | |
|-----------------------------|------------------------|---|--------------|--------------|--------------|---------------|
| | | Concentraciones | | | | |
| | | 5 mg/ml | 0.5 mg/ml | 0.1 mg/ml | 0.05 mg/ml | 0.01 mg/ml |
| 1 | 0.312 | 0.023 | 0.114 | 0.079 | 0.062 | 0.507 |
| 2 | 0.311 | 0.022 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 3 | 0.311 | 0.022 | 0.113 | 0.078 | 0.062 | 0.506 |
| 4 | 0.311 | 0.021 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 5 | 0.311 | 0.021 | 0.112 | 0.081 | 0.061 | 0.506 |
| 6 | 0.311 | 0.020 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 7 | 0.311 | 0.020 | 0.112 | 0.078 | 0.062 | 0.506 |
| 8 | 0.310 | 0.019 | 0.112 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 9 | 0.311 | 0.019 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| 10 | 0.311 | 0.018 | 0.112 | 0.078 | 0.062 | 0.507 |
| Promedio | 0.311 | 0.021 | 0.113 | 0.079 | 0.062 | 0.506 |
| Porcentaje de Inhibición, % | | 93.41 | 63.76 | 74.63 | 80.10 | -62.77 |

Fuente: Propia.

ANEXO N° 07. Absorbancia del extracto de la pulpa de *Ananas comosus* piña variedad cayena liza, con el método DPPH.

| Número de lecturas | Solución DPPH (1 mM) | Extracto etanólico pulpa de <i>Ananas comosus</i> (muestra-seca) primera lectura | | | | |
|-----------------------------|----------------------|--|---------------|--------------|--------------|--------------|
| | | Concentraciones - cayena lisa | | | | |
| | | 5 mg/ml | 0.5 mg/ml | 0.1 mg/ml | 0.05 mg/ml | 0.01 mg/ml |
| 1 | 0.312 | -0.080 | -0.092 | 0.167 | 0.150 | 0.152 |
| 2 | 0.311 | -0.080 | -0.092 | 0.168 | 0.148 | 0.149 |
| 3 | 0.311 | -0.080 | -0.092 | 0.167 | 0.149 | 0.149 |
| 4 | 0.311 | -0.081 | -0.092 | 0.166 | 0.148 | 0.148 |
| 5 | 0.311 | -0.080 | -0.092 | 0.166 | 0.149 | 0.148 |
| 6 | 0.311 | -0.081 | -0.092 | 0.166 | 0.149 | 0.149 |
| 7 | 0.311 | -0.081 | -0.092 | 0.167 | 0.148 | 0.148 |
| 8 | 0.310 | -0.081 | -0.092 | 0.166 | 0.149 | 0.149 |
| 9 | 0.311 | -0.081 | -0.092 | 0.166 | 0.148 | 0.148 |
| 10 | 0.311 | -0.081 | -0.092 | 0.166 | 0.148 | 0.148 |
| Promedio | 0.311 | -0.081 | -0.092 | 0.167 | 0.149 | 0.149 |
| Porcentaje de Inhibición, % | | 125.92 | 129.58 | 46.46 | 52.22 | 52.15 |

Fuente: Propia.

| Número de lecturas | Solución DPPH (100uM) | Extracto etanólico pulpa de <i>Ananas comosus</i> (muestra-seca) segunda lectura | | | | |
|-----------------------------|-----------------------|--|---------------|--------------|--------------|--------------|
| | | Concentraciones | | | | |
| | | 5 mg/ml | 0.5 mg/ml | 0.1 mg/ml | 0.05 mg/ml | 0.01 mg/ml |
| 1 | 0.312 | -0.080 | -0.092 | 0.167 | 0.149 | 0.149 |
| 2 | 0.311 | -0.080 | -0.092 | 0.167 | 0.148 | 0.149 |
| 3 | 0.311 | -0.080 | -0.092 | 0.167 | 0.150 | 0.149 |
| 4 | 0.311 | -0.080 | -0.092 | 0.165 | 0.148 | 0.148 |
| 5 | 0.311 | -0.081 | -0.092 | 0.166 | 0.148 | 0.149 |
| 6 | 0.311 | -0.080 | -0.092 | 0.166 | 0.149 | 0.149 |
| 7 | 0.311 | -0.081 | -0.092 | 0.166 | 0.148 | 0.148 |
| 8 | 0.310 | -0.081 | -0.092 | 0.168 | 0.148 | 0.149 |
| 9 | 0.311 | -0.081 | -0.092 | 0.166 | 0.148 | 0.148 |
| 10 | 0.311 | -0.081 | -0.092 | 0.166 | 0.148 | 0.148 |
| Promedio | 0.311 | -0.081 | -0.092 | 0.166 | 0.148 | 0.149 |
| Porcentaje de Inhibición, % | | 125.88 | 129.58 | 46.50 | 52.28 | 52.22 |

Fuente: Propia.

| Número De Lecturas | Solución DPPH (100 uM) | Extracto etanólico pulpa de <i>Ananas comosus</i> (muestra-seca) tercera lectura | | | | |
|--------------------------------|------------------------------|---|---------------|--------------|--------------|--------------|
| | | Concentraciones | | | | |
| | | 5 mg/ml | 0.5 mg/ml | 0.1 mg/ml | 0.05 mg/ml | 0.01 mg/ml |
| 1 | 0.312 | -0.079 | -0.092 | 0.166 | 0.149 | 0.149 |
| 2 | 0.311 | -0.080 | -0.092 | 0.167 | 0.149 | 0.148 |
| 3 | 0.311 | -0.080 | -0.092 | 0.167 | 0.148 | 0.150 |
| 4 | 0.311 | -0.081 | -0.092 | 0.165 | 0.148 | 0.148 |
| 5 | 0.311 | -0.081 | -0.092 | 0.165 | 0.149 | 0.148 |
| 6 | 0.311 | -0.081 | -0.092 | 0.166 | 0.148 | 0.148 |
| 7 | 0.311 | -0.081 | -0.092 | 0.165 | 0.149 | 0.149 |
| 8 | 0.310 | -0.081 | -0.092 | 0.166 | 0.148 | 0.148 |
| 9 | 0.311 | -0.081 | -0.092 | 0.166 | 0.149 | 0.148 |
| 10 | 0.311 | -0.081 | -0.092 | 0.166 | 0.148 | 0.148 |
| Promedio | 0.311 | -0.081 | -0.092 | 0.166 | 0.149 | 0.148 |
| Porcentaje de Inhibición, % | | 125.92 | 129.58 | 46.66 | 52.25 | 52.28 |

Fuente: Propia.

ANEXO N° 08. Absorbancia del extracto de la pulpa de *Ananas comosus* piña variedad lorenza, con el método DPPH.

| Número de lecturas | Solución DPPH (1 mM) | Extracto etanólico pulpa de <i>Ananas comosus</i> (muestra-seca) primera lectura | | | | |
|--------------------------------|----------------------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | | Concentraciones - lorenza | | | | |
| | | 5 mg/ml | 0.5 mg/ml | 0.1 mg/ml | 0.05 mg/ml | 0.01 mg/ml |
| 1 | 0.312 | 0.083 | 0.098 | 0.022 | 0.276 | 0.015 |
| 2 | 0.311 | 0.081 | 0.098 | 0.443 | 0.314 | 0.035 |
| 3 | 0.311 | 0.081 | 0.098 | 0.184 | 0.132 | 0.067 |
| 4 | 0.311 | 0.080 | 0.098 | 0.100 | 0.254 | 0.061 |
| 5 | 0.311 | 0.079 | 0.098 | 0.335 | 0.112 | 0.062 |
| 6 | 0.311 | 0.079 | 0.098 | 0.292 | 0.261 | 0.062 |
| 7 | 0.311 | 0.078 | 0.098 | 0.391 | 0.296 | 0.062 |
| 8 | 0.310 | 0.078 | 0.098 | 0.521 | 0.267 | 0.062 |
| 9 | 0.311 | 0.078 | 0.098 | 0.258 | 0.250 | 0.062 |
| 10 | 0.311 | 0.077 | 0.098 | 0.203 | 0.103 | 0.061 |
| Promedio | 0.311 | 0.079 | 0.098 | 0.275 | 0.227 | 0.055 |
| Porcentaje de Inhibición, % | | 74.47 | 68.49 | 11.61 | 27.17 | 82.35 |

Fuente: Propia.

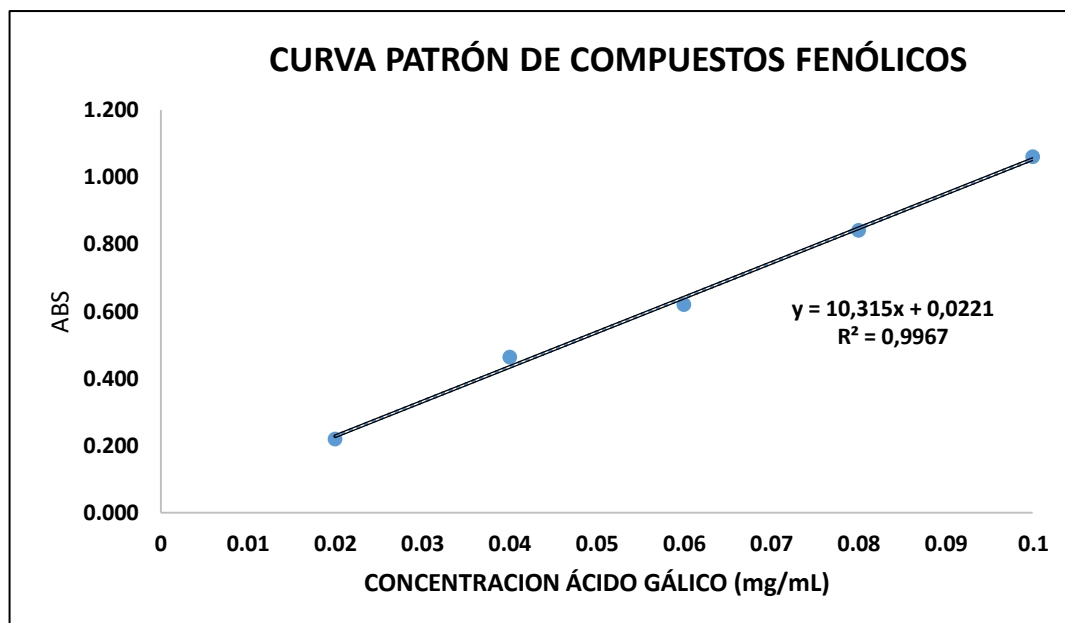
| Número de lecturas | Solución DPPH (100uM) | Extracto etanólico pulpa de <i>Ananas comosus</i> (muestra-seca) segunda lectura | | | | |
|-----------------------------|-----------------------|--|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | | Concentraciones | | | | |
| | | 5 mg/ml | 0.5 mg/ml | 0.1 mg/ml | 0.05 mg/ml | 0.01 mg/ml |
| 1 | 0.312 | 0.083 | 0.098 | 0.143 | 0.366 | 0.099 |
| 2 | 0.311 | 0.081 | 0.098 | 0.083 | 0.207 | 0.238 |
| 3 | 0.311 | 0.080 | 0.098 | 0.645 | 0.354 | 0.045 |
| 4 | 0.311 | 0.080 | 0.099 | 0.281 | 0.165 | 0.062 |
| 5 | 0.311 | 0.079 | 0.098 | 0.155 | 0.184 | 0.062 |
| 6 | 0.311 | 0.079 | 0.099 | 0.175 | 0.014 | 0.061 |
| 7 | 0.311 | 0.078 | 0.098 | 0.040 | 0.339 | 0.061 |
| 8 | 0.311 | 0.078 | 0.098 | 0.164 | 0.177 | 0.061 |
| 9 | 0.310 | 0.079 | 0.098 | 0.154 | 0.190 | 0.061 |
| 10 | 0.311 | 0.078 | 0.098 | 0.223 | 0.283 | 0.062 |
| Promedio | 0.311 | 0.080 | 0.098 | 0.206 | 0.228 | 0.081 |
| Porcentaje de Inhibición, % | | 74.44 | 68.42 | 33.67 | 26.72 | 73.89 |

Fuente: Propia.

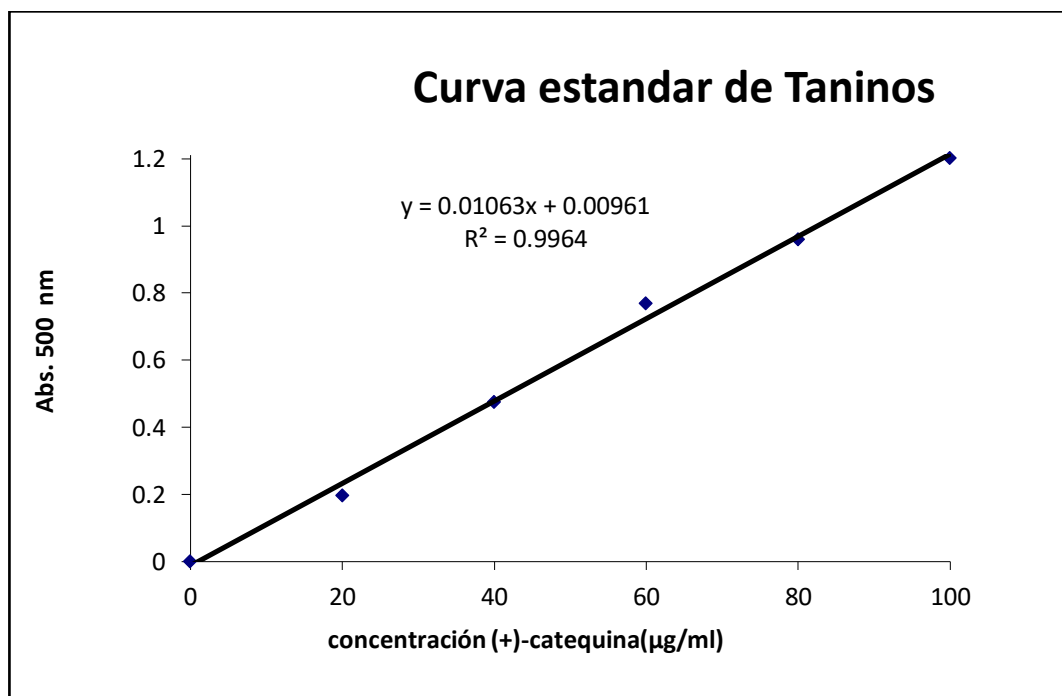
| Número De lecturas | Solución DPPH (100 uM) | Extracto etanólico pulpa de <i>Ananas comosus</i> (muestra-seca) tercera lectura | | | | |
|-----------------------------|------------------------|--|--------------|-------------|--------------|--------------|
| | | Concentraciones | | | | |
| | | 5 mg/ml | 0.5 mg/ml | 0.1 mg/ml | 0.05 mg/ml | 0.01 mg/ml |
| 1 | 0.312 | 0.082 | 0.098 | 0.317 | 0.162 | 0.740 |
| 2 | 0.311 | 0.081 | 0.098 | 0.291 | 0.059 | 0.014 |
| 3 | 0.311 | 0.080 | 0.098 | 0.613 | 0.203 | 0.061 |
| 4 | 0.311 | 0.080 | 0.098 | 0.180 | 0.460 | 0.061 |
| 5 | 0.311 | 0.079 | 0.098 | 0.073 | 0.001 | 0.061 |
| 6 | 0.311 | 0.079 | 0.099 | 0.477 | 0.250 | 0.061 |
| 7 | 0.311 | 0.078 | 0.098 | 0.497 | 0.269 | 0.062 |
| 8 | 0.310 | 0.078 | 0.098 | 0.282 | 0.113 | 0.061 |
| 9 | 0.311 | 0.078 | 0.098 | 0.127 | 0.182 | 0.062 |
| 10 | 0.311 | 0.077 | 0.098 | 0.224 | 0.139 | 0.061 |
| Promedio | 0.311 | 0.079 | 0.098 | 0.308 | 0.184 | 0.124 |
| Porcentaje de Inhibición, % | | 74.53 | 68.46 | 0.93 | 40.90 | 60.00 |

Fuente: Propia.

ANEXO N° 09. Curva patrón de ácido gálico para cálculo de Fenoles Totales.



ANEXO N° 10. Curva estándar de taninos para cálculos de taninos.



ANEXO N° 11. Fotos.

Planta de *Ananas comosus* Piña variedad cayena liza y lorena



Materia prima *Ananas comosus* Piña variedad cayena liza



Materia prima *Ananas comosus* Piña variedad lorena



Pesado de la materia prima *Ananas comosus* Piña cascara en las variedades de cayena liza y lorena



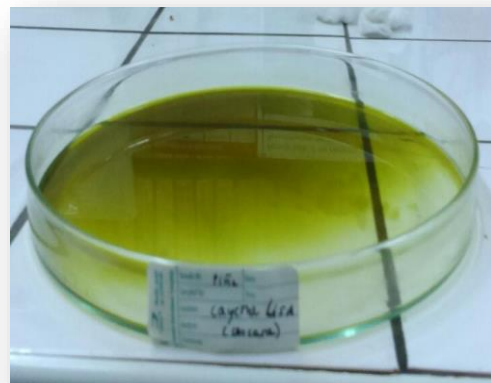
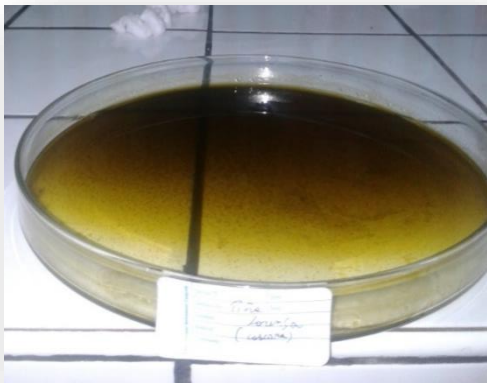
Secado, molido y pesado de la *Ananas comosus* Piña cascara en las variedades de cayena liza y lorena



Preparación de los extractos de la *Ananas comosus* Piña cascara en las variedades de cayena liza y lorena



Obtención de los extractos de la *Ananas comosus* Piña cascara en las variedades de cayena liza y lorena



Muestra total del filtrado de la *Ananas comosus* Piña cáscara en las variedades de cayena liza y lorena



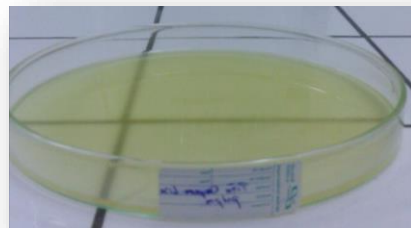
Pesado de la materia prima *Ananas comosus* Piña pulpa en las variedades de cayena liza y lorena



Preparación de los extractos de la *Ananas comosus* Piña pulpa en las variedades de cayena liza y lorena



Obtención de los extractos de la *Ananas comosus* Piña pulpa en las variedades de cayena liza y lorena



Muestra total del filtrado de la *Ananas comosus* Piña pulpa en las variedades de cayena liza y lorena

