

# **ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL**

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y  
AGROINDUSTRIA**

**RECUPERACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS A PARTIR DE  
SUBPRODUCTOS DE LA PIÑA (*Ananas comosus*)**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PRESENTADO COMO  
REQUISITO PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO  
AGROINDUSTRIAL**

**RICARDO DAVID PALACIOS PÉREZ**

**ricardo.palacios01@epn.edu.ec**

**DIRECTOR: MARÍA CATALINA VASCO CARRILLO**

**catalina.vasco@epn.edu.ec**

**DMQ, marzo 2023**

## CERTIFICACIONES

Yo, Ricardo David Palacios Pérez declaro que el trabajo de integración curricular aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.



---

**RICARDO DAVID PALACIOS PÉREZ**

Certifico que el presente trabajo de integración curricular fue desarrollado por Ricardo David Palacios Pérez, bajo mi supervisión.



---

**MARÍA CATALINA VASCO CARRILLO**  
**DIRECTOR**

## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA**

A través de la presente declaración, afirmamos que el trabajo de integración curricular aquí descrito, así como el (los) producto(s) resultante(s) del mismo, son públicos y estarán a disposición de la comunidad a través del repositorio institucional de la Escuela Politécnica Nacional; sin embargo, la titularidad de los derechos patrimoniales nos corresponde a los autores que hemos contribuido en el desarrollo del presente trabajo; observando para el efecto las disposiciones establecidas por el órgano competente en propiedad intelectual, la normativa interna y demás normas.

Ricardo David Palacios Pérez

Dra. María Catalina Vasco Carrillo

Ing. Jenny Marcela Ávila Vélez M. Sc.

## **DEDICATORIA**

A toda mi familia en especial a mis padres Marco y Narcisa a quienes siempre dedico todo mi esfuerzo y mis logros; son todos para ellos. A mis hermanos Marco y Gaby quienes han sido mi ejemplo a seguir, profesional y personalmente. A mis sobrinos Martín y Danna quienes tienen un futuro prometedor gracias al apoyo de sus padres y a quienes espero ser el mejor ejemplo algún día. Son todos lo más valioso que tengo.

## AGRADECIMIENTO

A mis padres quienes hicieron posible este sueño de poder estudiar y ser profesional ya que con su esfuerzo, dedicación y amor me han dado todo lo que puedo pedir, su apoyo incondicional.

A la Escuela Politécnica Nacional y a sus excelentes profesores por haberme compartido de la mejor manera sus conocimientos y por haberme brindado las mejores experiencias, en especial a la PhD. Mary Casa quien fue mi tutora durante toda mi carrera.

A la Msc. Jenny Ávila quien siempre me apoyo durante la elaboración de la presente investigación y que además fue mi profesora años atrás. Le agradezco haber invertido su tiempo y su esfuerzo para guiarme durante todo este proyecto. A la PhD Catalina Vasco por su tiempo y por su asesoría en una etapa crucial de esta investigación.

A la Ing. Vanessa Sánchez por su tiempo, su paciencia y su apoyo durante la parte experimental final de esta investigación.

A la Ing. Vanesa Naranjo quien supo brindarme su apoyo en el Laboratorio de Bioprocesos.

A la Lcda. Paola Zárate quien me brindó su tiempo y supo compartir sus enseñanzas conmigo durante la etapa experimental final.

A la Ing. Patricia Alba quien supo apoyarme siempre y quien estuvo en la mayoría de los momentos más difíciles y cruciales. Gracias por su tiempo, paciencia y conocimiento.

A mis primos quienes han sido un ejemplo para mi y han sido siempre mi apoyo incondicional durante toda mi vida.

A mis compañeros y amigos de la universidad John, Raúl, Joselyn, Katty, Gaby, Eri con quienes he compartido las mejores experiencias durante la carrera. Y a ti Pame por haber sido mi apoyo incondicional durante estos meses.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

CERTIFICACIONES .....	I
DECLARACIÓN DE AUTORÍA .....	II
DEDICATORIA .....	III
AGRADECIMIENTO .....	IV
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	V
AUSPICIO.....	VII
RESUMEN.....	VIII
ABSTRACT.....	IX
1. DESCRIPCIÓN DEL COMPONENTE DESARROLLADO .....	1
1.1. Objetivo general.....	2
1.2. Objetivos específicos .....	2
1.3. Alcance .....	2
1.4. Marco teórico .....	3
1.4.1. La Piña .....	3
1.4.2. Subproductos de la piña .....	5
1.4.3. Compuestos Fenólicos de los subproductos de la piña .....	9
1.4.4. Extracción de los Compuestos Fenólicos .....	11
2. METODOLOGÍA.....	19
2.1. Acondicionamiento de los subproductos de piña.....	19
2.2. Caracterización de la cáscara de piña.....	19
2.3. Extracción de compuestos fenólicos solubles de la cáscara de piña con ultrasonido .....	19
2.4. Determinación de compuestos fenólicos solubles totales en los extractos obtenidos con ultrasonido .....	20
2.5. Determinación de actividad antioxidante en los extractos obtenidos con ultrasonido .....	21
2.6. Extracción de compuestos fenólicos solubles de la cáscara de piña con método convencional.....	21
2.7. Determinación de flavonoides solubles totales en extracto etanólico .....	22
2.8. Análisis de los compuestos fenólicos .....	23
3. RESULTADOS, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	24
3.1. Resultados .....	24
3.1.1. Caracterización química de la cáscara de piña ( <i>Ananas comosus</i> ) ..	24
3.1.2. Determinación de compuestos fenólicos solubles totales de los extractos obtenidos con ultrasonido.....	25
3.1.3. Determinación de la actividad antioxidante de los extractos obtenidos con ultrasonido. ....	27
3.1.4. Extracción de compuestos fenólicos por método convencional y determinación de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de los extractos de la cáscara de piña .....	28

3.1.5. Determinación del contenido de flavonoides totales solubles en el extracto etanólico de la cáscara de piña.....	30
3.1.6. Análisis de compuestos fenólicos por HPLC del extracto obtenido de la cáscara de piña .....	31
3.2. Conclusiones .....	35
3.3. Recomendaciones .....	36
4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	37
5. ANEXOS .....	45

## AUSPICIO

La presente investigación contó con el auspicio financiero del Proyecto PIS 19-09: “Evaluación de métodos de extracción no convencionales para la obtención de compuestos bioactivos a partir de subproductos de piña (*Ananas comosus*), taxo (*Passiflora tripartita*), mora (*Rubus glaucus*) y frutilla (*Fragaria vesca*)”

## RESUMEN

La cáscara de piña, como subproducto de esta fruta, aún contiene compuestos bioactivos que se pueden aprovechar debido a su valor como antioxidantes, principalmente. La presente investigación tuvo como objetivo evaluar un método de extracción asistida con ultrasonido (EAU) para recuperar compuestos fenólicos a partir de este subproducto. Se evaluaron: la relación etanol:agua (50:50 y 70:30 (v/v)) del solvente y el tamaño de partícula (0,25 y 0,42 mm) de la cáscara de piña liofilizada. El mayor contenido de compuestos fenólicos solubles totales extraídos fue de  $617,83 \pm 12,91$  mg (EAG)/100 g (MS), que se logró al emplear la solución de etanol al 70 % (v/v) como solvente y las cáscaras de piña con un tamaño de 0,25 mm como soluto. Este tratamiento presentó una actividad antioxidante de  $22,05 \pm 0,92$  a  $\mu\text{mol (ET) /g (MS)}$  mediante el método de DPPH y un mayor contenido de flavonoides totales de  $235,32 \pm 6,86$  mg (CE)/100 g (MS). Este método de extracción no convencional presentó un aumento de 29,63 % de compuestos fenólicos extraídos y 14,29 % más de capacidad de inhibición de radical DPPH comparado con el método convencional. Mediante un análisis por HPLC se determinó que el perfil de estos compuestos del extracto etanólico está por debajo del límite de cuantificación del método. Por lo que se realizó un extracto metanol:agua 70:30 (v/v) con el que se logró la identificación tentativa de 6 compuestos fenólicos más representativos: ácido gálico, catequina, epicatequina, epigallocatequina-6-galato, rutina y ácido caféico.

**PALABRAS CLAVE:** extracción asistida por ultrasonido, compuestos fenólicos, flavonoides, actividad antioxidante, cromatografía.

## ABSTRACT

Pineapple peel, as a by-product of this fruit, contains bioactive phenolic compounds that can be used due to their high value as antioxidants. The objective of the present work was to evaluate ultrasonic assisted extraction (UAE) method to recover phenolic compounds from this by-product. Concentrations of ethanol:water solution (50:50 and 70:30 (v/v)) and particle size (0.25 and 0.42 mm) of lyophilized and ground pineapple peel were evaluated. The highest concentration of total soluble phenolic compounds extracted was  $617.83 \pm 12.91$  mg (GAE)/100 g (DM), which was obtained using the 70% (v/v) ethanol solution as solvent and the pineapple peel particle size of 0.25 mm as solute. This treatment presented an antioxidant activity of  $22.05 \pm 0.92$   $\mu$ mol (TE)/g (DM) using the DPPH method and total flavonoid content of  $235.32 \pm 6.86$  mg (CE)/100 g (DW). This no conventional extraction method presented an increase of 29.63 % of total phenolic compounds and 14.29 % more capacity for DPPH radical inhibition compared to the conventional method. The HPLC analysis of this extracts was below the quantification limit of this method. Therefore, a methanol:water 70:30 (v/v) extract was used, with which the tentative identification of 6 most representative phenolic compounds was achieved: gallic acid, catechin, epicatechin, epigallocatechin-6-gallate, rutin and caffeic acid.

**KEYWORDS:** ultrasonic assisted extraction (UAE), phenolic compounds, flavonoids, antioxidant activity, chromatography.

## **1. DESCRIPCIÓN DEL COMPONENTE DESARROLLADO**

La producción, el comercio y el consumo de piña en el Ecuador ha incrementado significativamente en los mercados nacional e internacional debido a su alto contenido de nutrientes, a sus propiedades sensoriales aceptables por sus consumidores y a su valor terapéutico. El procesamiento de la piña para la obtención de pulpas, mermeladas, jugos, entre otros, implica la separación de la pulpa de sus subproductos como las cáscaras, las hojas, el corazón y las semillas. Estos subproductos de la piña conforman entre el 40 y 50 % de toda la fruta, que al ser desechados como basura pueden llegar a ser un problema medio ambiental, sobre todo cuando su tratamiento no es el adecuado, contaminando el agua y el suelo debido a su alto contenido de biomasa y bajo pH (muy ácido).

Las cáscaras de piña son consideradas como un subproducto de segunda generación a partir de las cuales se puede extraer compuestos bioactivos como flavonoides, catequina, ácido gálico, ácido ferúlico, epicatequina y p-coumarina. El contenido de estos compuestos fenólicos antioxidantes otorga a estos subproductos un alto valor y ofrecen una gran oportunidad de aprovechamiento en las industrias de alimentos y farmacéuticos. Se ha buscado extraer estos compuestos aplicando diversos métodos de extracción convencionales y en los últimos años no convencionales. Los métodos no convencionales resultan más atractivos por requerir menor tiempo y emplear menos cantidad de solvente; en este contexto se busca emplear solventes como el etanol, que resultan ser menos contaminantes, facilitan el uso de estos compuestos y pueden llegar a obtener mayor rendimiento.

El presente estudio tiene como finalidad extraer compuestos fenólicos utilizando como materia prima la cáscara de piña empleando la técnica de extracción asistida por ultrasonido como método no convencional, usando etanol como solvente.

## **1.1. Objetivo general**

Evaluar el rendimiento de recuperación de compuestos fenólicos a partir de los subproductos de piña utilizando la extracción asistida por ultrasonido.

## **1.2. Objetivos específicos**

- Caracterizar los subproductos agroindustriales de la piña.
- Evaluar los métodos no convencional y convencional para comparar sus rendimientos en la extracción de compuestos fenólicos
- Determinar de manera semi-cuantitativa los compuestos fenólicos de interés extraídos.

## **1.3. Alcance**

Se trabajará con la cáscara de piña, obtenida como subproducto del procesamiento de la elaboración de pulpas de la empresa ENVAGRIF (Tumbaco – Pichincha). Se iniciará con una caracterización química de este subproducto. Luego se empleará el ultrasonido (UAE) como método no convencional de extracción de compuestos fenólicos, se evaluarán dos tamaños de partícula y dos concentraciones de solvente (etanol) sobre el rendimiento de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante, para luego comparar estos resultados con el método convencional. Con el tratamiento que mayor rendimiento se obtenga, se realizará la determinación de flavonoides por espectrofotometría y un análisis por HPLC de los compuestos fenólicos.

## 1.4. Marco teórico

### 1.4.1. La Piña

La planta de piña (*Ananas comosus*) es originaria de Sudamérica, particularmente al norte del Río Amazonas; fue domesticada, cultivada y seleccionada por los indios tupí-guaraníes, los acompañó en sus migraciones hacia el norte a las Antillas, norte Andes y Centroamérica (Bartholomew et al., 2003). Ha servido como alimento y como símbolo a lo largo de la historia humana de los americanos, debido a su intensa dulzura, la “fruta excelente” era un elemento básico de las fiestas y ritos indios (Levins, 1995). Es una de las frutas comestibles más importantes a nivel mundial, es la tercera fruta tropical más consumida después del banano y las frutas cítricas (Hernandez et al., 2021).

Es la principal especie vegetal de la familia *Bromeliaceae*, es una monocotiledónea perenne con una inflorescencia terminal y una fruta múltiple terminal (Guang-Ming et al., 2016). La clasificación taxonómica de esta planta se encuentra resumida en la Tabla 1.

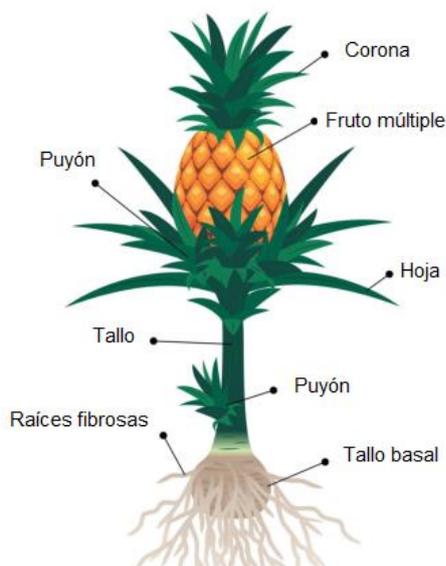
**Tabla 1.** Taxonomía de la piña (Pac, 2005).

<b>Nombre científico</b>	<i>Ananas comosus</i>
<b>Reino</b>	Plantae
<b>Clase</b>	Magnoliophyta
<b>Orden</b>	Bromeliales
<b>Familia</b>	Bromeliaceae
<b>Género</b>	Ananas
<b>Especie</b>	<i>A. comosus</i> (L) Merr.

Las plantas adultas de piña son de tipo herbáceo y perennes, pueden alcanzar un tamaño entre 75 y 150 cm de altura y tener entre 90 y 120 cm de ancho. Tienen un tallo robusto con hojas estrechas, fibrosas y espinosas. Las flores normalmente son autoestériles, desarrollan un fruto partenocárpico. El fruto, los brotes y las raíces se fijan al tallo (Coppens y Leal, 2003).

El pedúnculo sustenta la inflorescencia que generará un fruto múltiple llamado sincarpo, es decir, de tipo agregado formado por 100 a 200 estructuras individuales dispuestas en forma de hélice junto a cilindro central (corazón). Tiene una forma cilíndrica, es carnosa y termina en una agrupación de hojas (corona), mientras que la pulpa (la parte comestible) es de

color blanco o amarillo de acuerdo con la variedad (Guang-Ming et al., 2016). La morfología de la planta de piña se presenta en la Figura 1.



**Figura 1.** Morfología de la planta de piña (Monteiro et al., 2021).

Para que esta fruta alcance su mayor rendimiento y calidad, debe cultivarse en clima tropical, con temperaturas entre 24 y 27 °C, precipitaciones entre los 1 200 - 2 000 mm durante el año (AGROCALIDAD, 2012), una humedad de 70 a 90 %, una altitud entre 100 a 600 m.s.n.m., sobre suelos que posean buen drenaje, permeables con pH entre 5 y 6 (MICIP; ONUDI, 2006).

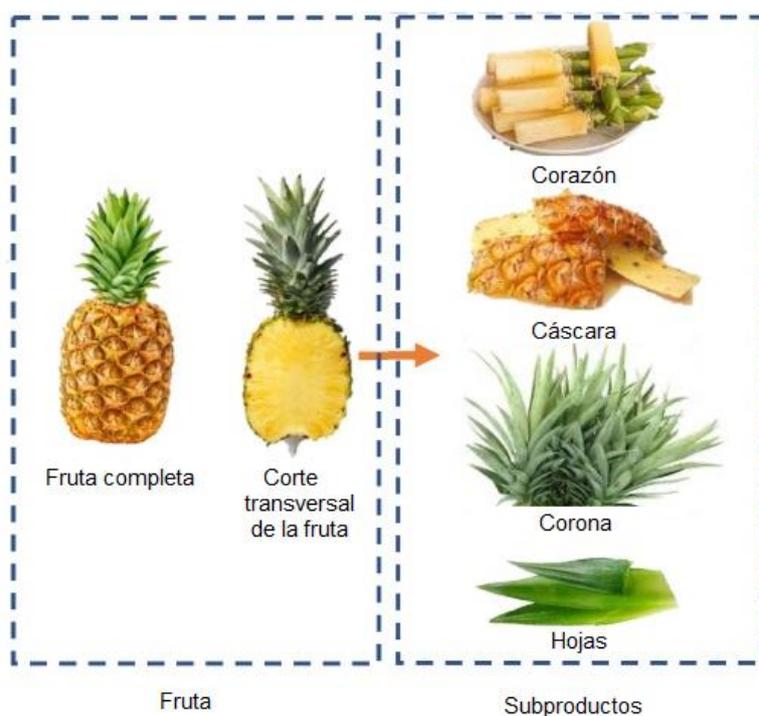
Las características geográficas del Ecuador, es decir, el clima, la altitud y el suelo de manera general, favorecen el desarrollo del cultivo de la piña (Pinto, 2012). De acuerdo al Censo Nacional Agropecuario 2021 en el país existen 6 079 ha de superficie de cultivo de piña, en especial en las provincias del litoral (Manabí, Esmeraldas, Guayas, Santo Domingo de los Tsáchilas, Los Ríos y El Oro) y alcanza una producción de 202 604 Tm (ESPAC, 2022), de las cuales 99 940 toneladas de fruta fresca se exportaron hacia países como Chile, Países Bajos, Estados Unidos, Argentina, Alemania, Nueva Zelanda y Rusia (AGROCALIDAD, 2021), ocupando el puesto 26 en la producción de piña a nivel mundial (Hikal et al., 2021).

La piña es una fruta muy apreciada a nivel mundial, lo que resulta en grandes volúmenes de producción y una alta rentabilidad comercial. Está compuesta principalmente de agua, carbohidratos, ácidos orgánicos, fibra dietética, antioxidantes, vitaminas (A, B1, B2, B3, B5, B6, B9 y C) y minerales (potasio, sodio, zinc, calcio, magnesio, fósforo, manganeso, hierro, cobre y selenio) (Monteiro et al., 2021).

### 1.4.2. Subproductos de la piña

Como consecuencia de la creciente producción y consumo de esta fruta, el volumen de residuos de piña acumulados ha ido aumentando paulatinamente, generando una cantidad significativa de desechos, por lo que es aún más crítico desarrollar alternativas de aprovechamiento de la fruta integral (Monteiro et al., 2021). De acuerdo con Roda y Lambri (2019) como consecuencia de la masiva producción de piña se genera una cantidad significativa de residuos, no solo por los desechos del procesamiento, también se pierde fruta por su baja calidad; hasta el 80 % de la fruta podría perderse durante el transporte y almacenamiento incorrecto.

En general el cultivo de piña genera diferentes residuos desde la cosecha hasta las diversas fases de procesamiento, ya sea doméstico o comercial. En el campo, luego de la cosecha, se desechan las hojas, los tallos y las raíces; mientras que del procesamiento se desechan parte de la pulpa, la cáscara, el corazón y la corona, (Monteiro et al., 2021), como se observa en la Figura 2.



**Figura 2.** Subproductos de la fruta de piña (Kumar y otros, 2022).

Basado en la información del CENSO Agrícola del 2021, se puede establecer que dentro del país se comercializar ~102 644 Tm para consumo como fruta fresca o para ser procesada. Del procesamiento de la piña, se pueden obtener diferentes productos como jugos, néctares, jaleas, rodajas en almíbar, pulpa concentrada congelada y bromelina

(Monteiro et al., 2021). Con base al rendimiento que tiene esta fruta como pulpa y la cantidad de fruta que se comercializa internamente, se puede establecer que se desechan entre 21 066 Tm y 61 598 Tm, que corresponden a la corona, corazón y la cáscara, principalmente (AGROCALIDAD, 2021).

Aproximadamente el 60 % de la piña es comestible mientras que los subproductos del procesamiento oscilan entre el 45 % y 65 % (Difonzo et al., 2018). De estos subproductos, la cáscara representa el mayor porcentaje, del 30 al 42 %, seguido del corazón con 10 %, y corona y hojas alrededor del 5 % (Roda y Lambri, 2019).

Convencionalmente, los desechos de la piña no son utilizados adecuadamente ya que la mayoría de los agricultores prefieren tirarlos, quemarlos o utilizarlos como alimento para animales o como compost; pocos agricultores producen biogás o bioetanol (Ravindra y Subhajt, 2020). Debido a esta gestión inadecuada, compuestos bioactivos importantes como carbohidratos, bromelina y polifenoles, entre otros, no se aprovechan. De manera general el principal objetivo de insertar residuos en la cadena de producción de nuevos compuestos es reducir costos, buscando un proceso más económico y competitivo, principalmente en las industrias alimentarias y farmacéuticas (Ketnawa et al., 2012).

Se han realizado varios estudios para sacar provecho a las diferentes fracciones que constituyen los subproductos de piña obtenidos de las industrial hortofrutícola, láctea y cárnica. De manera general, los subproductos de la piña se utilizan como sustrato para bromelina, ácidos orgánicos, etanol, etc., ya que son fuente importante de azúcares, vitaminas y factores de crecimiento (Upadhyay, et al., 2010).

La reinserción de estos subproductos en las cadenas de producción, en lo que se conoce como biorefinería, lo que permite un aprovechamiento mucho más diversificado de todo el potencial nutricional de la piña, ya que su biomasa puede actuar eficientemente como compuestos funcionales, además de la posibilidad de ser convertidos en productos de mayor valor añadido (Monteiro et al., 2021). A continuación, se detallan las principales aplicaciones de las fracciones que se obtienen de los subproductos del procesamiento de la piña:

#### **1.4.2.1. Corona**

La corona de la piña ha sido usada en diferentes aplicaciones, una de ellas es la producción de compuestos aromáticos de alto valor industrial, como tolueno y xileno, a través de procesos de pirólisis (Barbosa et al., 2019). También se ha aprovechado su fibra para la extracción de nanocristales de celulosa, que han sido probados para ayudar a reforzar los

nanocompuestos poliméricos (Peralta y Medina, 2021), o para aplicar un pre-tratamiento alcalino para obtener un licor rico en ácido ferúlico para luego, gracias a una bioconversión con *Aspergillus niger*, obtener ácido vanílico, el cual es precursor de producción de vainilla y otros derivados industriales (Monteiro et al., 2021).

#### **1.4.2.2. Hojas**

Las hojas de piña representan el mayor porcentaje de toda la planta; pero después de la recolección de la fruta, las hojas generalmente se dejan en el campo para descomponerse o quemarse, debido a la disponibilidad de tecnologías obsoletas y/o a la falta de conocimiento de los agricultores. Sin embargo, es mucho más estratégico incorporar las hojas al proceso de fabricación para nuevos productos (Chaudhary et al., 2019).

A partir de las hojas de la corona de la piña, se ha evaluado la producción de carbono activado para ser usado como adsorbente de cafeína en soluciones acuosas; para la producción de nanoláminas de carbón activado para aplicarlo como material supercondensador, y para la obtención de nanocristales de celulosa para fabricar nanocompuestos (Monteiro et al., 2021).

#### **1.4.2.3. Corazón**

La corona de la piña se ha evaluado para la extracción y utilización de fibras para la producción de pan mejorado, como materia prima para la producción de vinagre, para la obtención de nuevos productos con un diferenciado perfil metabólico y un ligero aroma floral, que puede mejorar los parámetros de calidad de los alimentos (Monteiro et al., 2021). También se ha empleado ampliamente para la extracción de bromelina y bioproducción de ácido vanílico y vainillina con *Aspergillus niger* y *Pycnoporus cinnabarinus* al emplearlo como sustrato (Li et al., 2012).

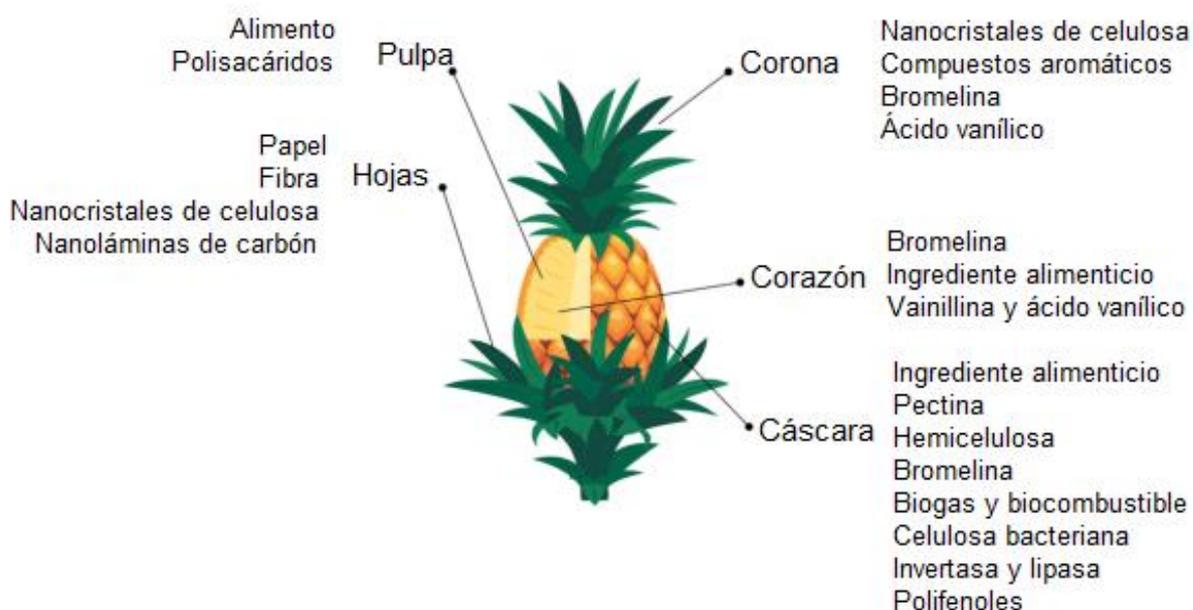
#### **1.4.2.4. Cáscara**

La cáscara de piña es el subproducto que más se produce durante el procesamiento de la piña, tiene el número más significativo de aplicaciones (Upadhyay et al., 2010). Generalmente, se ha empleado para obtener fibra suplementaria para la alimentación de ganado vacuno de leche (Ravindra y Subhajit, 2020).

Es fuente importante de varios compuestos bioactivos, además de ser la segunda fuente principal de bromelina, solo se encuentra detrás de la corona, lo que hace que tenga aplicación viable en diversos segmentos (Monteiro et al., 2021). Es un subproducto rico en composición nutricional, es fuente de carbohidratos, proteínas y celulosa, por lo que se ha usado para producir biogás y de bioetanol (Chaudhary et al., 2019), y se ha empleado para la obtención de celulosa bacteriana y la producción de las enzimas invertasa y lipasa (Ravindra y Subhajt, 2020).

La cáscara también se ha estudiado en la producción de vinagre, harina prebiótica funcional, barra de cereales (Monteiro et al., 2021); en la sustitución parcial de grasa y harina de trigo en la elaboración de una salchicha tipo “Viena” con la fibra dietética extraída de la cáscara (Galárraga, 2019), se ha evaluado su actividad antioxidante y sus principales compuestos fenólicos como ácido gálico, epicatequina, catequina y ácido ferúlico (Li et al., 2012).

Existen varios estudios que demuestran el potencial de los subproductos de piña en diferentes procesos y productos que se encuentran en la fase exploratoria, en algunos países ya tienen valor industrial (Upadhyay et al., 2010; Rasgado et al., 2016). En la Figura 3, se presenta un resumen de las principales aplicaciones de algunas fracciones de la piña.



**Figura 3.** Aplicaciones más comunes de diferentes fracciones de la piña (Monteiro et al., 2021).

### 1.4.3. Compuestos Fenólicos de los subproductos de la piña

#### 1.4.3.1. Compuestos Fenólicos

Son compuestos que resultan del metabolismo de las plantas, en otras palabras, son metabolitos secundarios de las plantas que presentan una amplia gama de diferentes estructuras y propiedades fisiológicas, como anti-alérgica, anti-aterogénica, anti-inflamatoria, anti-microbial, anti-trombótica, cardioprotector y con efecto vasodilatador (Li et al., 2012). El interés por estos compuestos ha ido aumentando durante la última década debido a que poseen una buena actividad antiradicalaria, es decir, tienen una alta capacidad de eliminar radicales libres asociados a diversas enfermedades degenerativas (Upadhyay et al., 2010).

Químicamente, son compuestos que poseen un anillo aromático en su estructura, es decir, un anillo benceno, con uno o más grupos hidroxilos incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc.) (Martínez-Valverde et al., 2000). La familia de los compuestos fenólicos comprende un grupo complejo de compuestos (alrededor de 8 000 identificados), que van desde moléculas simples como el ácido fenólico a compuestos poliméricos como los taninos (Vasco, 2009).

Se encuentran en las plantas en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilos, aunque en algunos casos se pueden producir uniones directas entre una molécula de azúcar y un carbono aromático, es decir, forman glicósidos. Es por esta razón que son compuestos solubles en agua y en solventes orgánicos (Martínez-Valverde et al., 2000).

Las principales subclases de fenoles, dependiendo de la estructura del aglicon, son los ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides y taninos hidrolizables y condensados. Dentro de los principales compuestos fenólicos presentes en las frutas se encuentran los ácidos fenólicos, los flavonoides y los taninos (Vasco, 2009).

- a. Los **ácidos fenólicos** en general son fenoles con un grupo ácido carboxílico, constan de dos subgrupos (Martínez-Valverde et al., 2000):
  - ácido hidroxibenzoico y
  - ácido hidroxicinámico.
- b. Los **flavonoides** forman parte del grupo más grande de compuestos fenólicos de origen vegetal y representan más de la mitad de los 8 000 compuestos fenólicos naturales. Las distintas subclases de flavonoides resultan de las variaciones en los patrones de sustitución del anillo C (Vasco, 2009):

- flavonoles,
- flavonas,
- flavanonas,
- flavanoles (o catequinas),
- isoflavonas,
- flavanonoles, y
- antocianinas.

c. Los **taninos** son compuestos poliméricos capaces de unirse a las proteínas y desnaturalizarlas. El nombre de tanino procede de la antigua práctica en la que se usaban extractos vegetales para curtir la piel animal. Los taninos se dividen en dos subclases (Ávalos y Pérez-Urria, 2009):

- taninos condensados y
- taninos hidrolizables

#### **1.4.3.2. Compuestos Fenólicos en la cáscara de la piña**

Los compuestos fenólicos presentes en los subproductos de la piña son de gran interés en la industria farmacéutica y alimenticia debido a sus propiedades biológicas con aplicaciones en la salud humana (Hikal et al., 2021).

La cáscara de piña posee diferentes componentes extra nutricionales entre los cuales están, en su mayor parte, compuestos fenólicos como flavonoides y carbohidratos complejos como la fibra dietética (Hernandez et al., 2021); y en menor cantidad algunos compuestos fitoquímicos como ácido sináptico, daucosterol, 2,5-dimetil-4-hidroxi-3-furanona y triperpenoide ergosterol (Silva et al., 2021).

Presenta grandes cantidades de flavonoides, taninos, terpenoides y saponinas, así como glucósidos y esteroides en cantidades mínimas (Hikal et al., 2021). De acuerdo con Li et al., (2012) los principales compuestos fenólicos extraídos en solución metanólica de la cáscara de piña son: catequina, epicatequina, ácido gálico y ferúlico. Los autores Monteiro et al., (2021) indican que el ácido clorogénico y el ácido ferúlico de un extracto acuoso de la cáscara de piña pueden tener un rol importante como agente antioxidante.

#### **1.4.4. Extracción de los Compuestos Fenólicos**

Este proceso involucra la separación del soluto deseado usando solventes específicos. Es un proceso previo y fundamental en la recuperación y, posteriormente en la identificación de fenoles a partir de subproductos agroindustriales (Ravindra y Subhajit, 2020). Al no existir un protocolo estándar para este proceso, es necesaria la implementación de técnicas que permitan obtener valiosa información para la caracterización de los subproductos (Dueñas, 2017).

Los compuestos fenólicos se han extraído de matrices vegetales molidas, secas o liofilizadas o solo con el remojo de partes vegetales frescas con posterior extracción con solvente; con estas técnicas también se logra la co-extracción de otros componentes como carbohidratos simples, ácidos orgánicos, alcaloides, terpenoides y proteínas, por lo que luego se necesita añadir un proceso extra de purificación (Ignat et al., 2011).

Existen diferentes métodos de extracción, que están disponibles para extraer eficientemente compuestos bioactivos de muestras o subproductos vegetales, como los métodos tradicionales y los no convencionales (Ravindra y Subhajit, 2020).

##### **1.4.4.1. Métodos de Extracción Convencional**

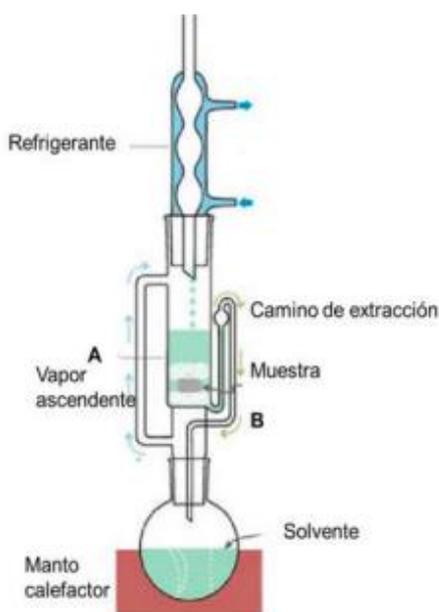
Son técnicas antiguas, generalmente usadas en pequeña escala para extraer solutos/compuestos bioactivos de la muestra. Estos métodos dependen de la eficiencia de extracción de los solventes empleados (Ravindra y Subhajit, 2020). Generalmente, se consideran métodos convencionales a aquellos en las que la extracción se realiza a presión atmosférica, con o sin agitación y temperatura (Fontana et al., 2013). Estas técnicas se clasifican en:

1. Extracción Soxhlet
2. Hidrodestilación
3. Maceración

###### **1.4.4.1.1. Extracción Soxhlet**

Es uno de los métodos tradicionales más conocidos y utilizados en matrices de origen vegetal para la obtención de compuestos bioactivos. Es una de las primeras técnicas de extracción llamada también como técnica de extracción sólido-líquido (Ravindra y Subhajit,

2020). Se reduce el tamaño de la muestra y se la coloca en el compartimento de extracción (Figura 4.). El equipo tiene un balón de destilación en la parte inferior en donde se coloca el solvente donde se hierva y se hace ebullicir. El vapor que resulta de la ebullición pasa de forma ascendente por el tubo "A", hasta el espacio que se encuentra cubierto por el refrigerante en una especie de chaqueta donde condensan y caen sobre el compartimento de extracción donde está la muestra. Cuando el compartimento se satura con el solvente, este pasa al balón inferior a través del tubo B junto con los compuestos extraídos (efecto sifón). Todo este proceso se realiza de manera continua e ininterrumpida logrando que los compuestos obtenidos se acumulen en el balón de destilación de la parte inferior del equipo (Azmir et al., 2013).



**Figura 4.** Extracción Soxhlet (UNLP, 2020)

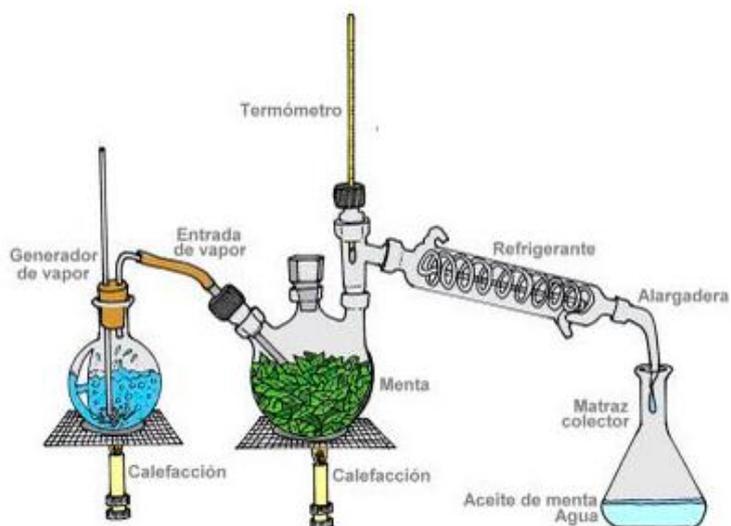
Se puede definir como un fenómeno de transporte masivo en el que los compuestos bioactivos de interés contenidos dentro de una matriz sólida migran a un solvente en fase líquida que se encuentra en contacto con dicha matriz. La eficiencia de extracción se puede mejorar por modificaciones en los gradientes de concentración, coeficientes de difusividad, siendo todos estos afectados por el tipo de solvente utilizado, tamaño de partícula, temperatura y tiempo de extracción, así como la presencia de otros componentes que interfieren en el matriz (Fontana et al., 2013).

### 1.4.4.1.2. Hidrodestilación

Es un método convencional para la obtención de compuestos bioactivos y aceites esenciales presentes en diferentes muestras vegetales. En este método no se requiere de solventes orgánicos, se desarrolla con agua destilada y toma generalmente de 6 a 8 horas para completar la extracción (Ravindra y Subhajt, 2020).

La hidrodestilación se basa en la muestra empacada o localizada en un compartimiento del destilador junto con una cantidad suficiente de agua que luego debe ser hervida, además, de que el vapor se inyecta a la muestra directamente. La mezcla del agua hervida y el vapor actúan conjuntamente, es el principal factor para la extracción (Ravindra y Subhajt, 2020).

Existen tres formas distintas de realizar este método: por destilación de agua, destilación de una mezcla de agua-vapor y destilación directa de vapor. Sin embargo, todos los tipos de hidrodestilación se fundamentan en tres procesos fisicoquímicos: hidrodifusión, hidrólisis y descomposición por calor (Figura 5). La principal limitante que tiene este método, para extracción de compuestos termolábiles, es que las temperaturas de extracción altas pueden perder algunos componentes volátiles (Azmir et al., 2013).



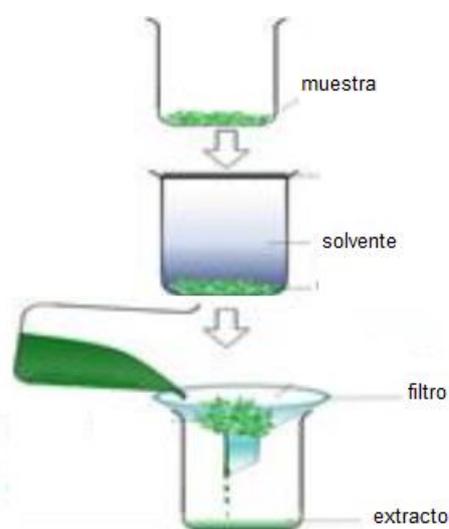
**Figura 5.** Hidrodestilación (Azmir et al., 2013).

### 1.4.4.1.3. Maceración

Esta técnica se popularizó por la forma económica de obtener aceites esenciales y compuestos bioactivos, se empleaba en la preparación casera de tónicos durante mucho tiempo (Ravindra y Subhajit, 2020).

Para la extracción a pequeña escala, la maceración generalmente consta de varios pasos. Se reduce el tamaño de partícula de muestras vegetales para aumentar el área de superficie para que se mezcle adecuadamente con el solvente en un recipiente. Luego, se filtra el líquido, pero el orujo, que es el residuo sólido, se presiona para recuperar una gran cantidad de líquido excluido. La solución que se coló y el líquido que se prensó se mezclan y se separan de las impurezas por filtración. La agitación ocasional facilita la extracción ya que aumenta la difusión y remueve el líquido concentrado de la superficie de los sólidos para llevar el nuevo solvente al recipiente y lograr extraer la mayor cantidad posible de todos los compuestos de interés (Azmir et al., 2013).

Cuando se trabaja con este método, el tiempo de extracción y la temperatura son parámetros importantes que se deben optimizar, si se toma en cuenta el costo de energía del proceso y que se busca alcanzar un alto rendimiento en la obtención de compuestos (Azmir et al., 2013). Además, factores como el solvente utilizado y la proporción de extracto y solvente son de suma importancia para lograr altos rendimientos, considerando la naturaleza polar de los compuestos. Muchos autores concluyen que un incremento en la temperatura mejora la eficiencia de la extracción aumentando la capacidad del soluto de disolverse en el solvente y mejorando el coeficiente de difusión (Spigno et al., 2007).



**Figura 6.** Hidrodestilación (Ravindra y Subhajit, 2020).

A pesar de que estas técnicas se han utilizado durante muchos años, tienen el limitante de requerir mucho tiempo de extracción y emplear cantidades relativamente grandes de disolventes. También como pasos de extracción comunes utilizados por estas técnicas, se incluye el calentamiento, la ebullición o el reflujo, que pueden producir una pérdida de compuestos fenólicos debido a la ionización, la hidrólisis y la oxidación durante el procedimiento (Fontana et al., 2013).

#### **1.4.4.2. Métodos de Extracción No Convencional**

Debido a las limitaciones que han demostrado tener los métodos convencionales y las principales desventajas como el largo tiempo de extracción, el costoso solvente, la baja selectividad de extracción y la posible termo-descomposición de los componentes; nuevas técnicas de extracción están empleando para reemplazar o minimizar esas limitaciones (Yahya et al., 2019).

A estas técnicas conocidas como no convencionales, algunos autores las refiere como “técnicas verdes”, por buscar cumplir los estándares de protección ambiental. Dentro de las técnicas se encuentran, principalmente:

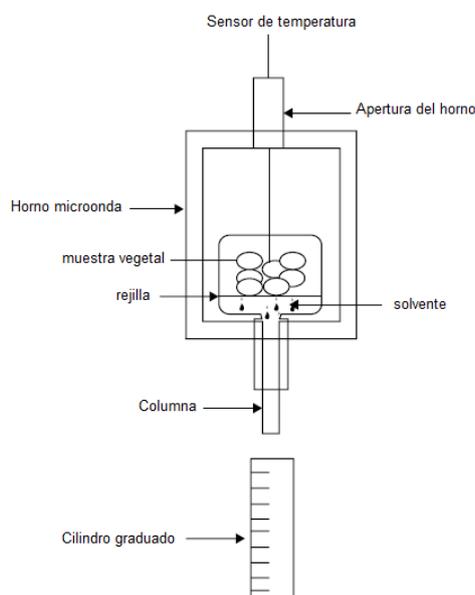
1. Extracción Asistida con Microondas
2. Extracción Asistida con Enzimas
3. Extracción Asistida con Ultrasonido

##### **1.4.4.2.1. Extracción Asistida con Microondas**

La irradiación microondas ha sido utilizada ampliamente en la industria alimenticia, debido a la demanda por procesos cortos, con baja demanda energética y que mantenga la calidad nutricional del alimento. Las aplicaciones más comunes de la irradiación microondas son el procesamiento térmico, especialmente secado, esterilización y pasteurización. Sin embargo, el efecto microondas de la irradiación sobre la membrana celular permite la posibilidad de otras aplicaciones, como la extracción de compuestos bioactivos (Vargas-Serna et al., 2022).

La extracción asistida por microondas se basa en la interacción entre las ondas electromagnéticas no ionizantes, las cuales poseen una frecuencia de 0,3 a 300 GHz (Salomón et al., 2013), y las moléculas de la muestra vegetal, provocando un cambio de energía electromagnética y calórica. El movimiento molecular y el colapso estructural causado por la presión de vapor permite la entrada del solvente en la matriz, la interacción

entre el solvente y el sustrato, solubilización de los compuestos en los solventes y la transferencia de masa, logran un rendimiento de extracción superior al obtenido con métodos convencionales. En consecuencia, un objetivo principal de la extracción asistida por microondas es el desarrollo de métodos que son más eficientes y producen extractos puros y altamente representativos (Azmir et al., 2013).



**Figura 7.** Extracción con microondas (Ahmed y Siddiq, 2017).

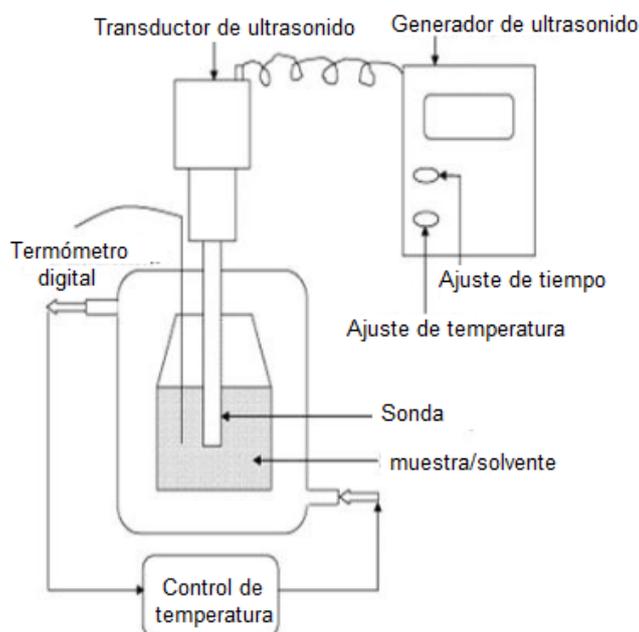
#### **1.4.4.2.2. Extracción Asistida con Enzimas**

Se basa en la utilización de enzimas hidrolíticas que rompen la matriz donde se encuentran encerrados los compuestos de interés (Otálora-Orrego y Martin-G, 2020).

El método con enzimas tiene la ventaja de no producir contaminación ya que no emplea ni produce compuestos que puedan volatilizarse al medio ambiente. Básicamente, los componentes que forman la semilla se deben hidrolizar dentro de un ambiente acuoso, a una temperatura y pH adecuados, durante un tiempo de contacto suficiente para que las enzimas puedan actuar de forma más eficaz (Ravindra y Subhajit, 2020).

### 1.4.4.2.3. Extracción Asistida con Ultrasonido

Este método emplea ondas de ultrasonido, con frecuencias que pueden estar en el rango de 20 kHz y 100 MHz, es decir, se emplean ondas de sonicación de baja y de alta intensidad que producen un fenómeno conocido como cavitación, que significa la generación, el desarrollo y el colapso de microburbujas (Azmir et al., 2013), que generan puntos de calor y energía, que rompen la matriz vegetal y permiten el paso del solvente al interior de dicha matriz, el cual arrastra consigo los compuestos de interés (Ahmed y Siddiq, 2017).



**Figura 8.** Extracción con Ultrasonido (Chemat et al., 2005).

Las ventajas de esta técnica incluyen la reducción del tiempo de extracción, energía y cantidad de solvente. Adicionalmente, la energía que el ultrasonido genera para la extracción también facilita una mezcla más eficaz, una transferencia de energía más rápida, gradientes térmicos, extracción selectiva, tamaño reducido del equipo, respuesta más rápida al control de extracción del proceso, puesta en marcha rápida, aumento de la producción y eliminación de pasos del proceso (Chemat et al., 2005).

Todos los parámetros de extracción, tanto de la metodología empleada como del equipo utilizado, son factores que tienen consecuencias significativas en la efectividad de este método. Dentro de las condiciones de trabajo más significativas destacan:

- **Temperatura de extracción:** se debe tener en cuenta que temperaturas de extracción superiores a 50 °C pueden reducir el rendimiento debido a la termosensibilidad de los compuestos de interés. Este parámetro puede variar las propiedades del solvente, como la viscosidad promover la difusión y la transferencia de masa (Otálora-Orrego y Martin-G, 2020).
- **Tiempo de extracción:** mientras mayor es el tiempo al que se somete la muestra al sonicador, mayor es el rendimiento de la extracción, pero solo hasta cierto punto donde este alcanzará un valor constante (Dueñas, 2017).
- **Frecuencia del ultrasonido:** influye directamente en la generación y desarrollo de las microburbujas para dar paso a la cavitación (Yahya et al., 2019)
- **Tamaño de partícula:** al disminuir el tamaño de partícula de las muestras vegetales puede aumentar el área de contacto para que se mezcle adecuadamente con el solvente (Azmir et al., 2013)
- **Solvente:** es la fase líquida que tiene la función de extraer o disolver los compuestos de interés, sin causar modificaciones químicas en la sustancia o a sí mismo, de tal manera que la mezcla que resulta es una solución homogénea (Morales, 2013).

Las propiedades físicas del solvente como la tensión superficial, la viscosidad y la presión de vapor pueden influir en la intensidad de las cavitaciones ultrasónicas de manera positiva o negativa. Cuando el solvente tiene una presión de vapor alta, la diferencia de presiones con el medio externo puede crear burbujas que colapsan con menor intensidad, de manera análoga, cuando el solvente tiene baja presión de vapor, se producen menor cantidad de burbujas para la cavitación (Dueñas, 2017). En varios estudios de extracción asistida se emplea como solvente etanol, por ser un producto natural obtenido por procesos biológicos, que beneficia la sostenibilidad del proceso de extracción al ser biodegradable (Wilson, 2020).

## **2. METODOLOGÍA**

### **2.1. Acondicionamiento de los subproductos de piña**

Para el desarrollo de este trabajo, se utilizaron las cáscaras de piña, como subproducto, resultante del procesamiento de la fruta para la obtención de pulpa. Se obtuvieron 12 kg de cáscaras de la empresa ENVAGRIF (Tumbaco, Pichincha) y se transportaron al Laboratorio de Bioprocesos de la Escuela Politécnica Nacional (Quito, Pichincha), donde se procedió a cortarlas hasta tener partículas de 1 cm<sup>2</sup>. Posteriormente, se las almacenó en un congelador a -4°C.

Durante 24 horas las muestras se colocaron en el ultracongelador (TEST INSTRUMENTS, TUC-86370) a -80 °C para luego ser liofilizadas (Lyovac, GT2, Alemania) durante 48 horas. Las cáscaras liofilizadas fueron procesadas en un molino de disco (Victoria, 3718-1, Colombia) para reducir su tamaño. Luego se tamizaron en un agitador mecánico (marca TYLER, modelo RX-29; Estados Unidos) durante 20 minutos con los tamices # 40 y # 60 (INEN, 2013), para retener los tamaños de partícula de 0,42 y 0,25 mm, respectivamente. Las muestras molidas se colocaron en empaques de aluminio, se etiquetaron y se almacenaron en congelación hasta su análisis.

### **2.2. Caracterización de la cáscara de piña**

Se inició con la caracterización química de las cáscaras de piña siguiendo los métodos descritos por la AOAC: AOAC 930.15 para humedad, AOAC 920.152 (Kjeldahl) para proteína, AOAC 989.05 para grasa, AOAC 940.25 de cenizas y el método descrito por INEN 522 ICC 513 para fibra cruda y la metodología propuesta por la FAO para carbohidratos totales y valor calórico (FAO, 1993).

Los resultados se presentan como la media  $\pm$  la desviación estándar.

### **2.3. Extracción de compuestos fenólicos solubles totales con ultrasonido**

Para la extracción de compuestos fenólicos solubles se utilizó el ultrasonido de sonda (Hielscher, UP100-H. Alemania). Se trabajó con la relación de 1:35 (m/v) soluto:solvente. Se tomaron 1,43 g de las muestras molidas (0,42 y 025 mm) de cáscara de piña y se mezclaron con 50 mL del etanol a dos concentraciones (50 y 70 %). La extracción se realizó

durante 5 min y 55 s a una temperatura de 30 °C, de acuerdo con la metodología propuesta Yahya, et al. (2019).

Para separar el extracto se usó una centrifuga (marca MPW Med. Instruments, modelo MPW-352R) durante 15 min a 6 000 rpm. Se recolectó el sobrenadante en matraces de 50 mL, se los cubrieron con papel aluminio y se almacenaron a 4 °C hasta su análisis.

Para determinar el mejor tratamiento se empleó un diseño factorial 2<sup>2</sup>. Las dos variables de entrada fueron: relación etanol:agua (50:50 y 70:30) del solvente y tamaño de partícula (0,42 y 0,25 mm). Las variables de respuesta fueron la determinación de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante.

Cada ensayo se realizó por triplicado y los resultados se presentaron como la media ± la desviación estándar, los cuales se analizaron en el Software Statgraphics Centurion XVI, se empleó el análisis de varianza (ANOVA) y el método de diferencia mínima significativa (LSD) con un nivel de confianza del 95 %.

En la Tabla 2. se presenta los tratamientos establecidos para evaluar la extracción de compuestos fenólicos solubles totales con este método no convencional.

**Tabla 2.** Tratamientos aplicados.

<b>Tratamiento</b>	<b>Relación etanol:agua (v:v) del solvente</b>	<b>Tamaño de partícula (No. de malla)</b>
<b>A</b>	50:50	0,42 mm (40)
<b>B</b>	70:30	0,42 mm (40)
<b>C</b>	50:50	0,25 mm (60)
<b>D</b>	70:30	0,25 mm (60)

#### **2.4. Determinación de compuestos fenólicos solubles totales en los extractos obtenidos con ultrasonido.**

Para determinar los compuestos fenólicos solubles totales se usó el método espectrofotométrico con el reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma) (Bobo-García, 2014). Se tomaron 20 µL de cada extracto y se mezclaron con 100 µL del Folin-Ciocalteu y se agitó durante 1 min en un equipo lector de microplacas multipocillo de fondo plano (Synergy H1, Biotek; Alemania). Luego de dejar reposar la mezcla por 4 min se añadió 75 µL de solución

acuosa de carbonato de sodio (Mallinckrodt) (100 g/L) y se agitó a velocidad media por 1 min.

Las soluciones se dejaron a temperatura ambiente (~ 20 °C) por 2 horas luego de lo cual se midió la absorbancia a 750 nm en el lector del equipo. Se midió la absorbancia de la misma reacción, con agua destilada como blanco. Se preparó una solución madre de ácido gálico (Sigma-Aldrich) a una concentración de 0,2 mg/mL y se realizaron 6 diluciones hasta 0,01 mg/mL con la cual se elaboró la curva patrón.

Los resultados se expresan como equivalente de ácido gálico (EAG) por cada 100 g de muestra seca.

## **2.5. Determinación de actividad antioxidante en los extractos obtenidos con ultrasonido**

Para la determinación de la actividad antioxidante se empleó trolox (Sigma-Aldrich) 2,5 mM, con etanol absoluto, y se elaboró una curva de calibración de 62,5 y a 625 µmol/L. Se preparó 100 mL de solución de radical DPPH• (Sigma-Aldrich) 150 µmol/L con metanol.

Se tomó 20 µL de cada dilución del estándar, al igual que 20 µL de cada extracto, 20 µL de agua con 180 µL de etanol absoluto (Merck) (blanco) y 20 µL de agua (control), y se colocaron en cada pocillo del equipo microplaca multipocillo de fondo plano (Synergy H1, Biotek. Alemania). En cada pocillo se añadió 180 µL de la solución de DPPH y se agitó durante 60 segundos. Se realizó la lectura de la absorbancia a 515 nm cada minuto durante 40 min, para obtener la cinética de la reacción. Para el análisis de resultados se aplicó la ecuación 3.1.

$$\% \text{ DPPH inhibido} = \left[ 1 - \left( \frac{A_{\text{muestra}} - A_{\text{blanco}}}{A_{\text{control}} - A_{\text{blanco}}} \right) \right] \times 100$$

**Ecuación 3.1.** Porcentaje de DPPH inhibido

Donde,

$A_{\text{muestra}}$ : es la absorbancia de cada extracto

$A_{\text{blanco}}$ : es la absorbancia del blanco

$A_{\text{control}}$ : es la absorbancia del control

Los resultados de esta variables se expresan como:  $\mu\text{mol}$  equivalente de trolox (ET) /g de muestra seca (MS) y % DPPH inhibido (Bobo-García, 2014).

## **2.6. Extracción de compuestos fenólicos solubles de la cáscara de piña con método convencional**

Se tomaron las variables del tratamiento con mayor contenido de compuestos fenólicos totales y mayor actividad antioxidante de los acápite 2.5 y 2.6 para compararlo con el método de extracción convencional. Se empleó la relación soluto:solvente de 1:35, se trabajó con tamaño de partícula 0,25 mm y la concentración de 70 % de etanol. La extracción se realizó durante 4 horas, manteniendo la temperatura de 30 °C (Muñoz, 2015).

Los extractos se centrifugaron durante 15 min a 6 000 rpm. Se recolectó el sobrenadante en recipientes de 50 mL, se los cubrieron con papel aluminio y se almacenaron a 4 °C hasta su análisis.

En los extractos obtenidos por este método se determinaron: contenido de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante, con la metodología empleada en los acápite 2.4 y 2.5, respectivamente. Los resultados de estas variables para cada método de extracción se compararon los resultados obtenidos con el método no convencional (ultrasonido).

Para determinar el mejor tratamiento, cada ensayo se realizó por triplicado y los resultados se presentaron como la media  $\pm$  la desviación estándar. Los datos se analizaron en el Software Statgraphics Centurion XVI, se empleó el análisis de varianza (ANOVA) y el método de diferencia mínima significativa con un nivel de confianza del 95 %.

## **2.7. Determinación de flavonoides solubles totales en extracto etanólico.**

En el extracto con mayor contenido de compuestos fenólicos totales y mayor actividad antioxidante, del análisis del acápite 2.6, se determinó el contenido de flavonoides solubles totales. Se mezcló 0,30 mL del extracto con 0,9 mL de nitrito de sodio (5 %) (Honeywell). Luego de 5 min, se añadió 0,5 mL de una solución de cloruro de aluminio hexahidratado

(2 %) (LobaChemie). Pasado 6 min se añadió a la mezcla 1,5 mL de hidróxido de sodio (1 M) (Merck). Luego de 10 min de incubación a temperatura ambiente, se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro UV/VIS (marca Jenway, modelo 6300) a 510 nm. Se preparó la curva de calibración usando como estándar catequina (Sigma-Aldrich) en concentración de 1 mg/mL hasta 0,05 mg/mL (Yahya, et al., 2019).

Los resultados se expresaron como mg de equivalente catequina (EC) por cada 100 g de muestra seca.

## **2.8. Análisis de los compuestos fenólicos**

Para el análisis de los compuestos fenólicos, se empleó cromatografía líquida (HPLC), utilizando el equipo Waters e2695, Xbridge C18 5 µm (Irlanda) El análisis se realizó al extracto con mayor contenido de compuestos fenólicos totales y mayor actividad antioxidante del análisis del acápite 2.6. Para ello, se usó un gradiente de 30 min de 15 % a 30 % de acetonitrilo (Merck) en ácido fórmico (Prolabo) (1%) a una velocidad de flujo de 1 mL/min en la columna (Atlantis® dC18: 4,6 mm x150 mm x 5 µm). Los cromatogramas se registraron a 250 nm, 280 nm, 320 nm, 260 nm y 520 nm.

### 3. RESULTADOS, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 3.1. Resultados

##### 3.1.1. Caracterización química de la cáscara de piña (*Ananas comosus*)

El resultado del análisis proximal de la cáscara de piña se presenta en la Tabla 3. El contenido de humedad en ambos tamaños de partícula es de aproximadamente el 14,1 %. Este valor es mayor al reportado por Cedeño y Zambrano (2014) el cual es de 9,84 % mientras que es muy parecido al valor obtenido por Florez-Montez, et. al. (2021) de  $14,52 \pm 0,23$  %.

El contenido de cenizas encontrada en este estudio es ~1 %, menor a los valores reportados en estudios realizados por Cedeño y Zambrano, (2014), pero es mayor al contenido de cenizas que presenta la pulpa fresca de piña en estudios realizados por Contreras y Tamani (2016) quienes reportan un valor de 0,21 % y que el de Asim et al., (2015), quienes reportan un valor de 1 %. Este parámetro representa el contenido total de minerales que aportan los vegetales, como parte de la evaluación nutricional de un producto (Marquez, 2014).

En relación con el contenido de proteína de la cáscara de piña se determinó un valor de 3,65 % y 3,59 %, para los tamaños de 0,42 mm y 0,25 mm, respectivamente. Según Abilio et al., (2009) la cáscara de piña presenta cantidades significativas de bromelina. Este porcentaje es mayor al contenido de proteína reportados en la pulpa fresca de piña, el cual tiene valores entre 0,42 % (Contreras y Tamani, 2016) y 0,54 % (Hernandez et al., 2021).

En el presente estudio se determinó que el contenido de carbohidratos totales más alto es de 75 %, cantidad mucho mayor a los reportados por Grespan, et .al (2019) de 19,62 % y por Flórez-Montes, et. al. (2021) de 54,82 %. Los principales carbohidratos que presenta la cáscara de piña es glucosa (7,90 %), sacarosa (7,31 %) y almidón (4,41 %) (Grespan et al., 2019).

La fibra cruda presente en la cáscara de piña de este estudio presentó valores de 13,57 % y 15,23 %, que son menores al valor de fibra total de 31,55 % reportado por Florez-Montez et al., (2021); quienes indican que la fibra de este tipo de productos vegetales puede emplearse para tratar problemas de sobrepeso, diabetes, cáncer de colon, enfermedades cardiovasculares y estreñimiento.

**Tabla 3.** Caracterización química de la cáscara de piña liofilizada y molida a dos tamaños de partícula

<b>Característica química (Factor)</b>	<b>Muestra 1 Tamaño 0,42 mm</b>	<b>Muestra 2 Tamaño 0,25 mm</b>
<b>Humedad (%)</b>	14,04 ± 0,01	14,08 ± 0,02
<b>Ceniza (%)</b>	3,66 ± 0,001	3,59 ± 0,00
<b>Extracto etéreo (%)</b>	2,53 ± 0,01	3,29 ± 0,02
<b>Proteína (%)</b>	4,52 ± 0,01	4,52 ± 0,01
<b>Carbohidratos totales (%)</b>	75,00 ± 0,00	74,67 ± 0,33
<b>Fibra cruda (%)</b>	13,57 ± 0,22	15,23 ± 0,25
<b>Valor calórico (kcal)</b>	341,67 ± 0,33	346,00 ± 1,00

Media ± desviación estándar (n=3)

Las diferencias que presentan entre los resultados de las características de la cáscara de piña del presente trabajo y los analizados, puede deberse a las diferentes variedades de esta fruta que son usadas en agroindustria, o también, puede ser por estado de maduración, condiciones ambientales, edafológicas y/o de tratamientos (Galárraga, 2019).

### **3.1.2. Determinación de compuestos fenólicos solubles totales de los extractos obtenidos con ultrasonido.**

El contenido de fenoles solubles totales de cada tratamiento se presenta en la Tabla 4. Como se puede observar existe diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos en relación con la concentración de etanol y el tamaño de partícula. El valor más alto de compuestos fenólicos solubles totales se obtuvo con el tratamiento D (relación etanol:agua 70:30 (v/v) del solvente, tamaño de partícula 0,25 mm) con  $617,83 \pm 12,91$  mg (EAG)/100 g (MS) extraídos; mientras que el menor contenido fue  $501,00 \pm 24,44$  mg (EAG)/100 g (MS) con el tratamiento A (relación etanol:agua 50:50 (v/v), tamaño de partícula 0,45 mm).

El agua y el etanol son solventes polares en los que son solubles diferentes solutos de naturaleza polar e iónicos (Beltrán et al., 2013). Los compuestos fenólicos al ser polares tienen una elevada solubilidad en agua, sin embargo, la mezcla de agua con otros solventes como etanol, metanol y algunos ácidos orgánicos puede llegar a optimizar el rendimiento del proceso de extracción, al aumentar la cantidad de compuestos obtenidos en menos tiempo (De la Escalera, 2021).

El mayor resultado alcanzado en este estudio es menor al reportado por Yahya et al., (2019), que es de  $1\ 078,68 \pm 1,32$  mg EAG/g de materia seca al usar para la extracción de

compuestos fenólicos de la cáscara de la piña, una solución hidroetanólica 50:50 (v/v) con tamaño de partícula que pasa por la malla de 40-Mesh, temperatura de 30 °C, durante 5,92 segundos en un equipo de ultrasonido.

En otro estudio con piña el contenido de polifenoles totales obtenido a partir de una extracción solo con agua fue 408 mg EAG/100 g MS y de 705 mg EAG/100 g MS de un extracto con una solución etanol:agua 80:20 (v/v), ambas extracciones se realizaron durante 25 minutos en un baño de ultrasonido (Lourenco et al., 2021). La extracción de compuestos fenólicos puede ser mayor al aumentar el contenido de agua, ya que se facilita la extracción por la solubilidad de los compuestos de la muestra (Soto-García y Rosales-Castro, 2016). De acuerdo con Irías y Lutz (2014) las diferencias en la composición química de los vegetales, aun al ser de la misma especie o variedad, no solo se debe al estado de maduración y al clima, también tiene influencia el tratamiento y la condición del suelo.

Por otro lado, la reducción del tamaño de partícula de una muestra incrementa la disponibilidad de área superficial para favorecer la transferencia de masa y así incrementar los rendimientos de extracción (Spigno et al., 2007), en este estudio el mayor contenido de compuestos fenólicos totales se alcance con el tratamiento que tiene un tamaño de partícula de 0,25 mm. Esto podría deberse a que la reducción del tamaño de partícula mejora la superficie de contacto entre soluto y solvente (Pinelo et al., 2005), lo que favorece al rendimiento de la extracción.

**Tabla 4.** Compuestos fenólicos totales en extractos de cáscara de piña con ultrasonido

Tratamiento	Compuestos fenólicos totales mg (EAG)/100 g (MS)
A	501,00 ± 24,44 <sup>a</sup>
B	519,73 ± 25,05 <sup>b</sup>
C	562,73 ± 19,83 <sup>b</sup>
D	617,83 ± 12,91 <sup>c</sup>

EAG: Equivalentes de ácido gálico.

MS: Muestra Seca (Peso seco).

Media ± desviación estándar (n=3)

Para cada columna, valores seguidos por diferente letra representan diferencias significativas (p<0,05)

El contenido de compuestos fenólicos solubles totales extraídos de la cáscara de piña es menor al de otros subproductos de frutas como manzanas o uvas (Li et al., 2012), sin embargo, con base a un estudio realizado con frutas ecuatorianas (Vasco, 2009), en el que se los clasifica por su contenido de compuestos fenólicos en tres grupos: alto (mayor a 500

mg EAG/100 g MS), intermedio (de 462 a 238 mg EAG/100 g MS) y bajo (de 91 a 26 mg EAG/100 g MS), la cáscara de piña podría estar en el primer grupo empleando cualquiera de los tratamientos de este estudio.

### 3.1.3. Determinación de la actividad antioxidante de los extractos obtenidos con ultrasonido.

Al realizar el análisis estadístico de varianza con un nivel del 95 % de confianza de los valores obtenidos de la determinación de actividad antioxidante de los distintos tratamientos de cáscaras de piña del presente estudio, se observa que no existe diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos. Los datos de la determinación de actividad antioxidante se observan en la Tabla 5.

**Tabla 5.** Actividad antioxidante de extractos de cáscara de piña

Tratamiento	Actividad Antioxidante	
	$\mu\text{mol (ET) /g (MS)}$	% DPPH inhibido
A	$21,66 \pm 0,73^a$	$88,30 \pm 3,66^a$
B	$21,45 \pm 0,72^a$	$87,75 \pm 3,81^a$
C	$21,65 \pm 0,63^a$	$88,33 \pm 4,30^a$
D	$22,05 \pm 0,92^a$	$89,61 \pm 3,81^a$

ET: Equivalentes de Trolox.

MS: Muestra Seca (Peso seco).

Media  $\pm$  desviación estándar (n=3)

Para cada columna, valores seguidos por diferente letra representan diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

Los valores obtenidos en el presente estudio son similares a los datos reportados en el trabajo de Benites et al., (2019) en el que se determina este parámetro en extractos etanólicos de cáscaras de piña con un valor de  $22,79 \pm 1,64 \mu\text{mol(ET)/g (MS)}$ ; pero menores a los de un extracto etanólico al 80 % (v/v) presentados por Lourenco et al., (2021), de  $91,79 \pm 1,98 \mu\text{mol (ET) / g (MS)}$ ; ambos obtenidos por un baño de ultrasonido durante 25 minutos a temperatura ambiente y una relación soluto:solvente de 1:1 (w/w).

De acuerdo con Ignat et al. (2011) la cáscara de piña se muestra como una fuente vegetal de alto potencial antioxidante. Para Lasunon et al. (2022) quienes reportan un mayor valor de %DPPH inhbido, de  $93,12 \pm 0,43 \%$ . La cáscara y el corazón de la piña son los subproductos, de esta fruta, que mayor concentración de fenoles y flavonoides totales

presentan. La unidad básica estructural de estos compuestos es el fenol, que se compone de un anillo aromático unido a un grupo hidroxilo, esta estructura es la que contribuye significativamente a las propiedades antioxidantes (Zhu et al., 2019).

Otro factor que pudo contribuir a que con este tratamiento se obtenga mayor actividad antioxidante, es el tamaño de partícula de 0,25 mm con el que se trabajó, en este estudio. De acuerdo a Prasedya et al. (2021), quienes evaluaron el efecto del tamaño de partícula sobre las propiedades antioxidantes en extractos etanólicos de *S. cristaefolium*, existe una correlación entre una mayor actividad antioxidante y el pequeño tamaño de las muestras.

De acuerdo con la clasificación presentada en el trabajo de Vasco (2009), con los resultados alcanzados en este estudio para la actividad antioxidante, la cáscara de piña presentaría una actividad antioxidante intermedia (22 a 44  $\mu\text{mol (ET)}/\text{g (MS)}$ ), pero mayor a la actividad antioxidante presente en la pulpa (45,6  $\pm$ 5,6 % DPPHinhbido) (Montero-Calderón et al., 2009).

#### **3.1.4. Extracción de compuestos fenólicos por método convencional y determinación de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de los extractos de la cáscara de piña**

Con base al análisis de datos de los resultados de los tratamientos propuestos para la extracción de compuestos fenólicos solubles totales con ultrasonido (método no convencional), se seleccionó al tratamiento D (relación etanol:agua 70:30 (v/v) del solvente y tamaño de partícula 0,25 mm) como el mejor tratamiento de extracción asistida con ultrasonido.

Se realizó la comparación de los resultados obtenidos por el método de extracción por ultrasonido con los obtenidos con el método de extracción convencional. En la Tabla 6 se muestra la comparación de los dos métodos de extracción de compuestos fenólicos solubles totales y actividad antioxidante de la cáscara de piña.

El contenido de compuestos fenólicos solubles totales y los valores de actividad antioxidante son estadísticamente diferentes ( $p < 0,05$ ) al comparar los métodos de extracción no convencional y convencional. El valor de compuestos fenólicos solubles totales extraídos es menor al usar el método convencional de extracción, con un valor de 434,77  $\pm$  23,40 mg (EAG)/100 g (MS), frente a la extracción por método no convencional, con ultrasonido, con el cual se observa que existe 29,63 % más de compuestos fenólicos solubles extraídos.

**Tabla 6.** Compuestos fenólicos solubles totales y actividad antioxidante de los dos métodos de extracción

Tratamiento	Compuestos Fenólicos Totales mg (EAG)/100 g (MS)	Actividad Antioxidante $\mu\text{mol (TE)/g (MS)}$	Actividad Antioxidante % DPPH inhibido
<b>No Convencional</b>	617,83 $\pm$ 12,91 <sup>a</sup>	22,05 $\pm$ 0,85 <sup>a</sup>	89,61 $\pm$ 3,81 <sup>a</sup>
<b>Convencional</b>	434,77 $\pm$ 23,40 <sup>b</sup>	20,70 $\pm$ 0,73 <sup>a</sup>	74,65 $\pm$ 2,13 <sup>b</sup>

EAG: Equivalentes de ácido gálico.

ET: Equivalentes de Trolox.

MS: Muestra Seca (peso seco).

Media  $\pm$  desviación estándar (n=3)

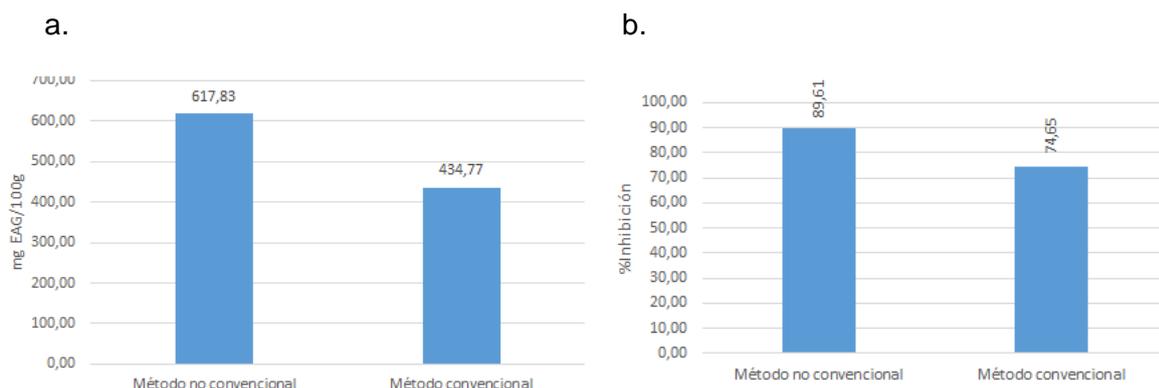
Para cada columna, valores seguidos por diferente letra representan diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

Mientras la actividad antioxidante determinada al emplear la extracción no convencional es de  $22,05 \pm 0,85 \mu\text{mol (TE)/g (MS)}$ , la determinada en el método de extracción convencional es menor, con un valor de  $20,7 \mu\text{mol (TE)/g (MS)}$ . Con base a este resultado se observa que los compuestos antioxidantes extraídos por el método convencional presentan 14,29 % menos capacidad de inhibición de radical DPPH• (Figura 9).

Dentro de las ventajas que presentan las técnicas de extracción no convencional, es que generalmente son más eficientes, de menor costo y tiempo de extracción (Penedo, 2021). El presente estudio muestra que los compuestos fenólicos solubles totales y la actividad antioxidante de los extractos obtenidos con ultrasonido son mayores a los del método convencional; además, en la extracción asistida con ultrasonido el soluto se sometió a ondas de ultrasonido por 5,92 minutos mientras que, la extracción convencional se realizó durante 4 horas, por lo que resultaría más eficiente. Yahya, et. al. (2019) indican que la disrupción mecánica y la desintegración de la pared celular que se da durante la sonicación favorece la liberación de compuestos bioactivos, los cuales se disuelven en etanol (solvente).

La temperatura de 30 °C del método no convencional contribuye a elevar la cantidad de burbujas durante la cavitación, reduce la tensión superficial y disminuye la viscosidad del solvente lo que favorece que los compuestos de la matriz vegetal se liberen (Foujdar et al., 2019).

Por otro lado al disminuir el rendimiento de extracción de fenoles solubles totales en una muestra se ve disminuida la capacidad antiradicalaria debido a la naturaleza antioxidante de estos compuestos (Ti et al., 2013).



**Figura 9.** a. Contenido de compuestos fenólicos solubles totales y b. Actividad antioxidante de los métodos de extracción no convencional y convencional

### 3.1.5. Determinación del contenido de flavonoides solubles totales en el extracto etanólico la cáscara de piña.

Con el resultado del acápite 3.1.4, se define al método de extracción no convencional con la relación etanol:agua 70:30 (v/v) del solvente y tamaño de partícula de 0,25 mm como el que mayor contenido de fenoles solubles totales y mayor actividad antioxidante, por lo que en este extracto se realiza la cuantificación del contenido de flavonoides solubles totales.

Para la determinación del contenido de flavonoides totales se realizó una curva de calibración usando catequina. Los datos se expresan en mg equivalentes de catequina por cada 100 g de extracto (mg (CE)/100 g (MS)) Tabla 7.

**Tabla 7.** Contenido de flavonoides solubles totales del método de extracción con ultrasonido (relación etanol:agua 70:30 (v/v) del solvente y tamaño de partícula de 0,25 mm)

Tratamiento	Flavonoides Totales mg <sub>CE</sub> /mL	Flavonoides Totales mg <sub>CE</sub> /100g <sub>MS</sub>	Media ± SD mg <sub>CE</sub> /100g <sub>MS</sub>
Extracción Asistida por Ultrasonido	0,070	242,54	235,32 ± 6,86
	0,067	234,57	
	0,066	228,87	

(n=3)

El contenido de flavonoides solubles totales de la extracción por ultrasonido fue de 235,32 ± 6,86 mg (CE)/100 g (MS). Este resultado de Jayasinghe, (2017), quien reportó

207 ± 0,02 mgCE/100 g MS en un extracto con agua llevado a ebullición durante 1 hora, pero menor al valor de 1 256,15 ± 20,50 mg QE/g MS reportado por Yahya et al. (2019).

Los mayores valores en la determinación de flavonoides solubles totales, podría deberse a que en los dos estudios se emplean como solvente soluciones hidroeténólicas, ya que de acuerdo con Soto-García y Rosales-Castro (2016), las mezclas de etanol y agua al 20, 50 y 80 % v/v poseen una mayor eficacia en la obtención de compuestos fenólicos.

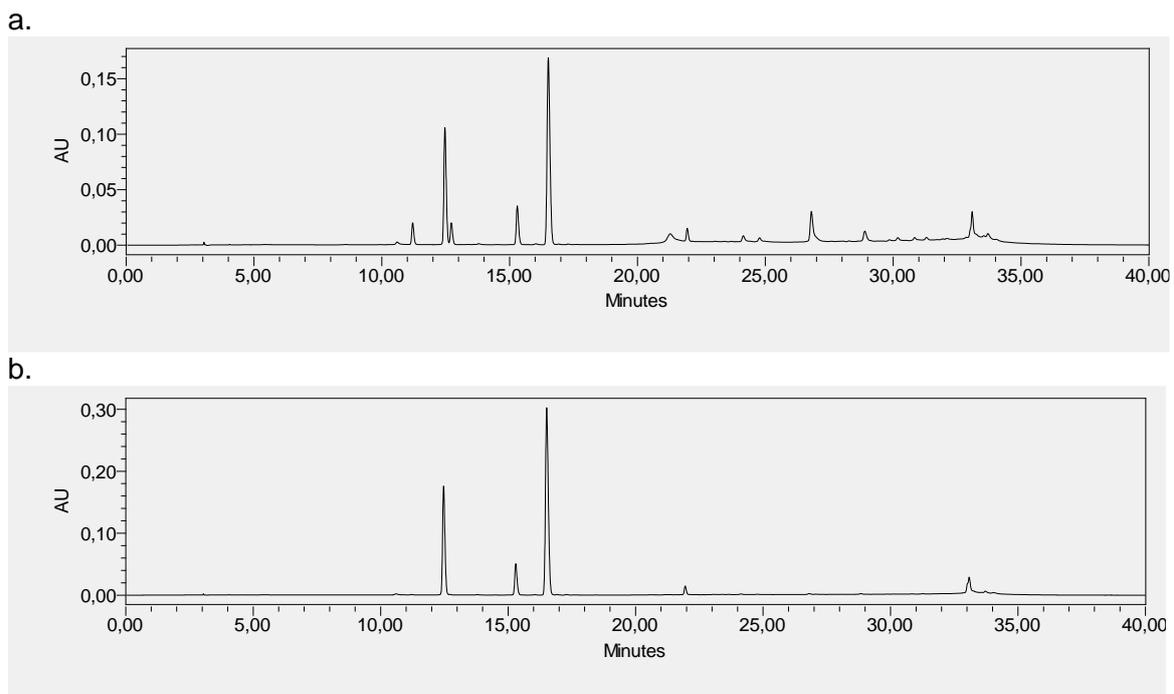
Li et. al. (2012) señalan que los compuestos fenólicos que se encuentran en mayor cantidad en la cáscara de piña son los flavonoides, y dentro de este grupo están la catequina (58,51 mg/100 g de extracto seco), epicatequina (50,00 mg/100 g de extracto seco), ácido gálico (31,76 mg/100 g de extracto seco) y ácido ferúlico (19,50 mg/100 g de extracto seco) como los principales flavonoides de este subproducto, que además tienen actividad antioxidante.

### **3.1.6. Análisis de compuestos fenólicos del extracto de la cáscara de piña por HPLC**

Con base al resultado del acápite 3.1.4, se emplea al extracto obtenido método de extracción no convencional con la relación etanol:agua 70:30 (v/v) del solvente y tamaño de partícula de 0,25 mm para el análisis de compuestos fenólicos por HPLC.

Se observó que, con esta metodología de extracción el contenido de fenoles totales está por debajo del límite de detección de equipo. Por lo que, con la finalidad de lograr la caracterización de compuestos fenólicos presentes en la cáscara de piña, se emplearon las mismas condiciones de extracción no convencional, pero se empleó como solvente, metanol en una proporción 70:30 v/v con agua desionizada.

En la Figura 10 se presenta el cromatograma de un mix de estándares fenólicos, en el cual es posible diferenciar algunos picos correspondientes a los diferentes compuestos fenólicos presentes en la muestra, que se identifican por la comparación de sus tiempos de retención. Tanto el mix de estándares como el extracto metanólico se identifican a las longitudes de onda de 280 nm y 320 nm; además, se obtuvieron los espectros de cada pico y se los comparó para obtener una identificación tentativa.



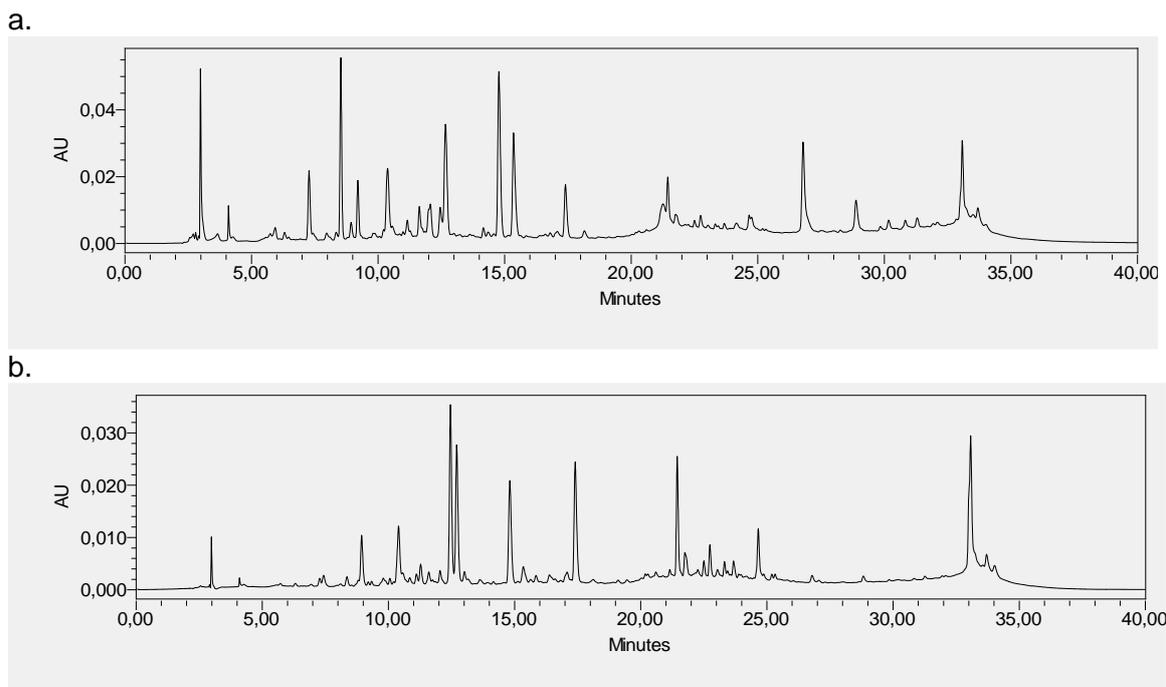
**Figura 10.** Cromatogramas del mix de estándares a longitudes de onda: a. 280 nm y b.320 nm.

El mix de estándares de compuestos fenólicos en una mezcla de sustancias patrón conocidos, que permiten identificar compuestos al comparar los tiempos de retención, entre los cromatogramas del mix, los espectros de los estándares y los de la muestra en el HPLC. Los estándares y el tiempo de retención respectivo se encuentran en la Tabla 8.

**Tabla 8.** Tiempo de retención de los estándares

<b>Estándar</b>	<b>Tiempo de retención tr (min)</b>
<b>Catequina</b>	11,12
<b>Ácido cafeico</b>	12,30
<b>Epicatequina</b>	12,60
<b>Ácido transferúlico</b>	15,70
<b>Rutina</b>	16,70
<b>Quercetina</b>	20,07

En el cromatograma del extracto metanólico de la cáscara piña, en la Figura 11, se observan varios picos cuyos tiempos de retención y espectros, se comparan con el cromatograma de los estándares y bibliográficamente, para identificar los compuestos fenólicos presentes (Collado, 2011).



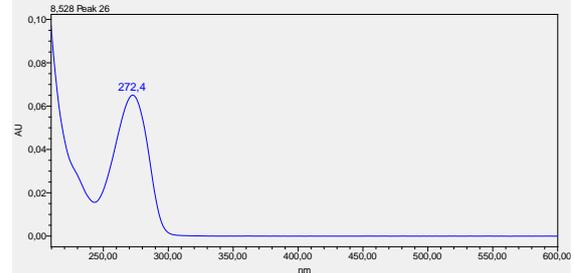
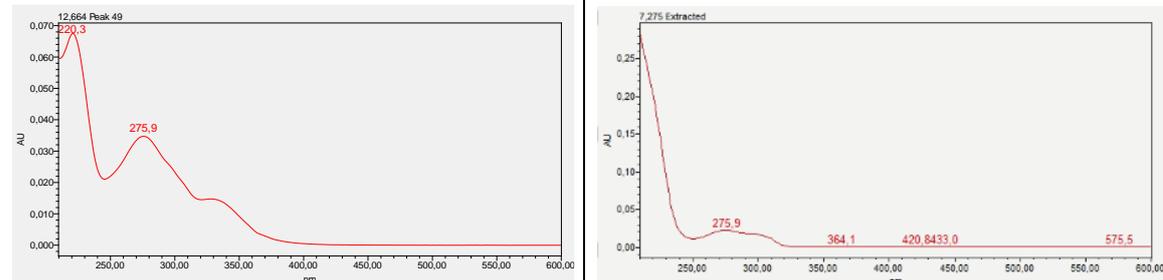
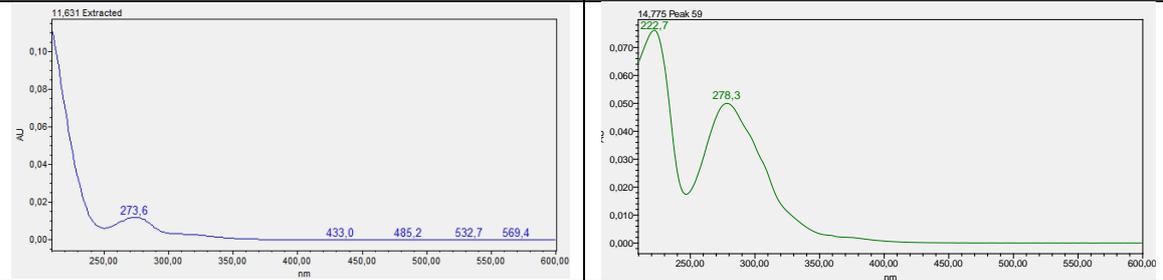
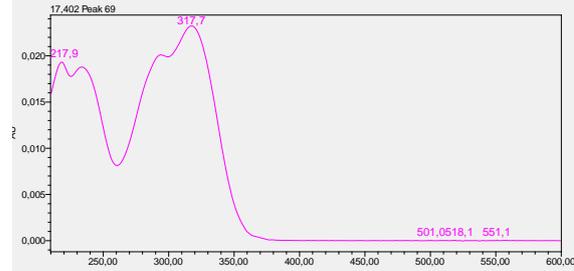
**Figura 11.** Cromatograma del extracto metanólico de la cáscara de piña a dos longitudes de onda: a. 280 nm y b.320 nm.

La comparación de los espectros obtenidos de la muestra con el mix de estándares y datos bibliográficos, dan como resultado la identificación tentativa de ácidos hidroxibenzoicos (280 nm), ácidos hidroxicinámicos (320 nm) y flavanoles (280 nm). Los espectros de absorbancia UV-Vis obtenidos de los patrones de la muestra se observan individualmente, en la Tabla 9.

El método cromatográfico empleado muestra una buena señal, tanto de los estándares como de la muestra, se observa una buena simetría y en la mayoría de los casos buena resolución de los picos. Tanto los tiempos de retención como la forma del espectro y las longitudes de onda máximas de absorbancia de cada compuesto en la muestra se compararon para lograr su identificación.

Los espectros de los compuestos de la muestra con tiempos de retención de 7,275; 17,402 y 14,775 minutos se compararon con los del mix de estándares y se identificaron como catequina, ácido caféico y rutina, respectivamente. A partir del minuto 15 se observan unos picos que se determinaron como contaminación del sistema cromatográfico.

**Tabla 9.** Espectros individuales de absorbancia UV-Visible de los patrones del extracto metanólico de la cáscara de piña.

<b>Ácidos Hidroxibenzoicos</b>	
<b>Ácido gálico</b>	
$C_7H_6O_5$	
	
<b>Flavanoles</b>	
<b>Epigallocatequina-3-galato</b>	<b>Catequina*</b>
$C_{22}H_{18}O_{11}$	$C_{15}H_{14}O_6$
	
<b>Epicatequina</b>	<b>Rutina*</b>
$C_{15}H_{14}O_6$	$C_{27}H_{30}O_{16}$
	
<b>Ácidos Hidroxicinámicos</b>	
<b>Ácido cafeico*</b>	
$C_{11}H_{12}O_5$	
	

\*Compuestos identificados por comparación con el mix de estándares.

Por otra parte, la forma del espectro y las longitudes de onda de máxima absorbancia de los demás picos presente en la muestra, se compararon con un estudio de identificación de polifenoles realizado por Collado (2011). Se identifica, tentativamente, ácido gálico, epicatequina-3-galato y epicatequina. El ejemplo de comparación de espectros del ácido gálico con la referencia bibliográfica se muestra en el Anexo VI (Collado, 2011).

Las características espectroscópicas de los compuestos fenólicos identificados se resumen en la Tabla 10.

**Tabla 10.** Identificación tentativa de compuestos fenólicos

Compuesto fenólico	Tiempo de retención (min)	UV-Visible $\lambda_{m\acute{a}x}$ (nm)
<b>Ácidos Hidroxibenzóicos</b>		
<b>Ácido gálico</b> C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	8,528	272,4
<b>Flavanoles</b>		
<b>Epigalocatequina-3-galato</b> C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	12,664	220,3; 275,9
<b>Catequina*</b> C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	7,275	275,9
<b>Rutina*</b> C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	14,775	222,7; 278,3
<b>Epicatequina</b> C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	11,631	273,6
<b>Ácidos Hidroxicinámicos</b>		
<b>Ácido cafeico*</b> C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	17,402	217,9; 317,7

\*Compuestos identificados por comparación con el "Mix" de estándares.

Los datos obtenidos en este trabajo concuerdan con el estudio realizado por Jaramillo y Márquez (2022), quienes identifican ácido gálico y ácido caféico como compuestos fenólicos presentes en las cáscaras de piña. Li et al. (2012) también identificaron la presencia de ácido gálico, catequina y epicatequina en este subproducto.

### 3.2. Conclusiones

La cáscara de piña es una fuente importante de fibra cruda la cual es necesaria para la prevención de enfermedades del aparato digestivo si se la incluye en la dieta de manera regular; además, contiene otros carbohidratos como glucosa, sacarosa y almidón, según el análisis bromatológico.

Con la solución de etanol:agua 70:30 (v/v) empleada para la extracción de compuestos fenólicos totales de la cáscara de piña se logró extraer 29,63% más comparado con la solución etanol:agua 50:30 (v/v).

Con el tratamiento con tamaño de partícula de 0,25 mm, relación etanol:agua 70:30 (v/v) (tratamiento D) y la extracción asistida con ultrasonido, se obtuvo el mayor rendimiento de compuestos fenólicos totales, con un valor de  $617,83 \pm 12,91$  mg(EAG)/100 g(MS).

La actividad antioxidante del extracto obtenido por el tratamiento D posee la capacidad de inhibir una mayor cantidad de radical DPPH, con una concentración de  $22,05$   $\mu$ mol (TE)/g (MS) y un porcentaje de inhibición del  $89,61 \pm 3,81$  %.

Con el método convencional se logró un rendimiento de compuestos fenólicos totales de  $434,77 \pm 23,40$  mg(EAG)/100 g(MS), actividad antioxidante de  $20,70 \pm 0,73$   $\mu$ mol (TE)/g (MS) y un porcentaje de inhibición del radical DPPH de  $89,61$  %.

El método de extracción por ultrasonido extrae mayor cantidad de compuestos fenólicos totales que el método de extracción convencional. El método de extracción no convencional se considera un método eficiente ya que reduce el tiempo de extracción de 4 horas a aproximadamente 6 minutos.

Con el método no convencional de extracción por ultrasonido empleando una mezcla de etanol en agua al 70 % v/v, el contenido de flavonoides totales fue de  $235,32$  mg (CE)/100 g (MS).

Con la metodología de extracción con etanol la concentración de fenoles totales está por debajo del límite de detección de equipo HPLC.

Con el extracto metanólico de la cáscara de piña, se lograron identificar los espectros de ácido gálico, catequina, epigallocatequina-3-galato, epicatequina, rutina y ácido cafeico, los cuales son los compuestos fenólicos más representativos dentro del grupo de los flavonoides de este estudio.

### **3.3. Recomendaciones**

Estudiar el efecto de otros parámetros como la temperatura, tiempo o la amplitud en la extracción asistida con ultrasonido para la recuperación de compuestos fenólicos.

Evaluar la extracción de compuestos aromáticos a partir de la cáscara de piña con metodología no convencional

Analizar otras matrices a partir de subproductos de piña para la recuperación de compuestos fenólicos.

#### 4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abílio, G., Holschuh, H., Bora, P., y Oliveira, E. (2009). Extraction, bromelain activity and analysis of some chemical parameters in pineapple varieties from Paraíba. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 31, 1117-1121.
- AGROCALIDAD. (2012). *AGROCALIDAD*. Retrieved 08 de 02 de 2023, from Guía de Buenas Prácticas Agrícolas para Piña. Resolución No. 182.: <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2022/08/Gu%C3%ADa-de-BPA-para-Pi%C3%B1a-jul.pdf>.
- AGROCALIDAD. (2021). *En 2021 se exportaron casi 100 mil toneladas de piña ecuatoriana*. <https://www.agrocalidad.gob.ec/en-2021-se-exportaron-casi-100-mil-toneladas-de-pina-ecuatoriana/>
- Ahmed, J., y Siddiq, M. (2017). Innovation processing technologies for pineapple processing. Capítulo 10. En *Handbook of Pineapple Technology. Production, Postharvest, Science, Processing and Nutrition* (pp. 175-195). Wiley Blackwell.
- AOAC. (2005). Official methods of analysis of AOAC International. Washongton: Gaithersburg: AOAC International.
- Asim, M., Abdam, K., Jawaid, M., Nasir, M., Dastizadeh, Z., Ishak, M., y Hoque. (2015). A review on Pineapple Leaves, Fiber and its Composites.
- Ávalos, A., y Pérez-Urria, E. (2009). Metabolismo secundario de las plantas. *Reduca (Biología) Serie Fisiología Vegetal*, 119-145.
- Azmir, J., Zaidul, I., Rahman, M., Sharif, K., Mohamed, A., Sahena, F., y Omar, A. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 426-436.
- Barbosa, A., Siquiera, L., y Medeiros, R. (2019). *Renewable aromatics through catalytic lash pyrolysis of pineapple crown leaves using HZSM-5 synthesized with RHA and diatomite*. Retrieved 12 de 02 de 2023, from <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.03.05>
- Bartholomew, D., Paull, R., y Rohrbach, K. (2003). The pineapple: Botany, Production and Uses. *CAB International*, 1.

- Beltrán, Y., Morris, H., Reynaldo, E., Quevedo, Y., y Bermudez, R. (2013). Contenido de fenoles totales en extractos de *Pleurotus* obtenido con solvente de diferente polaridad. *Revista cubana de Investigaciones Biomédicas*, 32(2), 121-129.
- Benites, J., Ybañez, R., Ganoza, M., Mantilla, E., Zavala, E., Velasquez, S., . . . Martinez, J. (2019). Antioxidant effect and chemical composition of *Ananas comosus* [L.] Merr. peels from Peruvian Northern. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 577-585.
- Bobo-García, G. D.-P.-A. (2014). *Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts and comparison with conventional spectrophotometric methods*. *Sci Food Agri*. Retrieved enero de 2023, from <https://doi.org/10.1002/jsfa.6706>
- Campos, D., Ribeiro, T., Teixeira, J., Lorenzo, P., y Pintado, M. (2020). Integral valorization of pineapple (*Ananas comosus* L.) by-products through a green chemistry approach towards added value ingredients. *Foods*, 9(60), 16.
- Cedeño, J., y Zambrano, J. (2014). Cáscaras de piña y mango deshidratadas como fuente de fibra dietética en producción de galletas. Calcuta: Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí.
- Chaudhary, V., Kumar, V., Vaishali, S., Singh, K., Kumar, R., y Kumar, V. (2019). Pineapple (*Ananas comosus*) product processing: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* , 4642-4652.
- Chemat, S., Aït-Amar, H., Lagha, A., y Esveld, D. (2005). Microwave-assisted extraction kinetics of terpenes from caraway seeds. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 1320-1326. doi:10.1016/j.cep.2005.03.011
- Collado, J. (2011). *Identificación de los polifenoles en zumos de frutas rojas*. Cartagena: Universidad Politécnica de Cartagena.
- Contreras, E., y Tamani, L. (2016). Evaluación de la Composición Bromatológica y su Capacidad Antioxidante de la *Ananas comosus* (piña) en las variedades de Cayena Liza y Lorenza. Universidad Naional de la Amazonía Peruana. Facultad de Industrias Alimentarias.

- Coppens, d. G., y Leal, F. (2003). Capítulo 2. En *Morphology, Anatomy and Taxonomy. The Pineapple Botany, Production and Uses*. (pp. 13-32).
- De la Escalera, J. (2021). Determinación de compuestos bioactivos en subproductos de vinificación. *Escuela de Farmacia. Trabajo de fin de grado*, 41.
- Difonzo, G., Vollmer, K., Caponio, F., Pasqualone, A., Carle, R., y Steingass, C. B. (2018). Characterisation and classification of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) juice from pulp and peel. *Food Control*. doi:10.10216/j.foodcont.2018.09.01.
- Dueñas, E. (2017). Optimización de las Condiciones de Extracción de Compuestos Fenólicos a partir de la Cáscara de Uva Variedad Quebranta (ICA, Perú) Empleando Técnicas Convencionales y Extracción Asistida por Ultrasonido. *Tesis para optar por el grado de Magíster en Química*.
- ESPAC. (2022). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua*. INEC. [https://doi.org/https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_agropecuarias/espac/espac-2021/Principales%20resultados-ESPAC\\_2021.pdf](https://doi.org/https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2021/Principales%20resultados-ESPAC_2021.pdf)
- Florez-Montez, C., Rojas-Gonzalez, A., y Rodriguez-Barona, S. (2021). *Bromatological characterization of fruit waste*. *Revista Biotecnologica en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. Retrieved 01 de 02 de 2023, from <https://doi.org/10.18684/rbsaa.v20.n1.2022.1759>
- Fontana, A., Antonolli, A., y Bottini, R. (2013). Grape Pomace as a Sustainable Source of Bioactive Compounds: Extraction, Characterization, and Biotechnological Applications of Phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Foujdar, R., Bandhu, M., y Kumar, H. (2019). Optimization of process variables of probe ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from the peel of *Punica granatum* Var. Bhagwa and it's chemical an bioactivity characterization. *Food Processing and preservation*, 1(1), 16.
- Galárraga, M. (2019). Evaluación de la Sustitución Parcial de Grasa y Harina de Trigo en una Salchicha Tipo "Viena" con Fibra Dietética Extraída de Residuos de Piña (*Ananas comosus*). *Proceso previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial*.

- Grespan, L., Rezende, A., Valadao, H., Candido, K., y Lara, L. (2019). Development, bromatological and sensory evaluation between flours prepared from pineapple fruit peels (*Ananas comosus*) and banana (*Musa spp*). *Brazilian Journal of Development* 9(7), 92300-92318.
- Guang-Ming, S., Xiu-Mei, Z., Alain, S., y Paul-Alex, M. (2016). *Nutritional Composition of Pineapple (Ananas comosus (L.) Merr.) Capítulo 25. Nutritional Composition of Fruit Cultivars.* 610-635. Retrieved 2023, from <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-408117-8.00025-8>
- Hernandez, G., Ortega, E., y Ortega, I. (2021). *Composición nutricional y compuestos fitoquímicos de la piña (Ananas comosus) y su potencial emergente para el desarrollo de alimentos funcionales.* *Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP*, 7(14), 24-28.
- Hernández, G., Ortega, E., y Ortega, I. (2021). *Composición nutricional y compuestos fitoquímicos de la piña (Ananas comosus) y su potencial emergente para el desarrollo de alimentos funcionales.* En *Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP* (p. 1). Oaxaca: ICAP.
- Hikal, W. M., Mahmoud, A., Said-Al Ahl, H., Bratovcic, A., Tkachenko, K., Kačániová, M., y Rodriguez, R. M. (2021). Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.), Waste Streams, Characterisation and Valorisation: An Overview. *Open Journal of Ecology*, 11, 610-634.
- Ignat, I., Volf, I., y Popa, V. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 1821-1835.
- INEN. (2013). *Norma Técnica Ecuatoriana. Mallas y tamices para ensayo. Requisitos.* Quito: INEN.
- Irias, A., y Lutz, G. (2014). Composición química de la biomasa residual de la planta de piña variedad MD2 proveniente de Guácimo, Limón. *Ciencia y Tecnología*, 30(2), 27-34.
- Jaramillo, K., y Marquez, S. (2022). *Estudio bibliográfico comparativo de la actividad antioxidante en cáscara de aguacate (Persea americana) y cáscara de piña (Ananas comosus).* Guayaquil: Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas.

- Jayasinghe, C. (2017). Conversion of industrial waste of pineapple (Peel) into vinegar by accelerated method for commercialization. *Senate Research and higher degrees committee*, 1(1), 2.
- Ketnawa, S., Chaiwut, P., y Rawdkuen, S. (2012). Pineapple wastes: a potential source for bromelain extraction. *Food Bioprod Process* , 385-391.
- Kumar, M., Wan, N., Mazila, A., Aishah, S., Abdul, N., Dailin, D., . . . Balasubramani, Z. (2022). *Microbial biotechnology approaches for conversion of pineapple waste in to emerging source of healthy food for sustainable enviroment. International Journal of Food Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109714>
- Lasunon, P., Phonkerd, N., Tettawong, P., y Sengkhampan, N. (2022). Total phenolic compound and its antioxidant activity of by-products from pineapple. *Food Research*, 14(6), 107-112.
- Levins, H. (1995). *Social History of the Pineapple*. Retrieved 07 de 01 de 2023, from <http://levins.com/pineapple.html>.
- Li, T., Shen, P., Liu, W., Liu, C., Liang, R., Yan, N., y Chen, J. (2012). Major Polyphenolics in Pineapple Peels and their Antioxidant Interactions. *International Journal of Food Properties* , 1805-1817. doi:10.1080/10942912.2012.732168
- Lourenco, S., Campos, D., Gomez, R., y Pintado, M. (2021). Optimization of natural antioxidants extraction from pineapple peel and their stabilization by spray drying. *Foods*, 10.
- Marquez, B. (2014). Cenizas y grasas. Refrigeración y congelación de alimentos: Terminología, definiciones y explicaciones. Arequipa: Universidad Nacional San Agustín. Facultad de Ingeniería de Procesos.
- Martínez-Valverde, I., Periago, M., y Ros, G. (2000). *Significado nutricional de los compuestos fenólicos en la dieta* . Retrieved 15 de 01 de 2023, from [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222000000100001&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222000000100001&lng=es&tlng=es).
- MICIP; ONUDI. (2006). *Ministerio de Comercio Exterior, Industrialización, Pesca y Competitividad y Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial*. Retrieved 08 de 01 de 2023, from Piña. Estudio Agroindustrial en el Ecuador:

Competitividad de la Cadena de Valor y Perspectivas de Mercado.:  
[https://issuu.com/mipro/docs/piniaestudio\\_agroindustrial](https://issuu.com/mipro/docs/piniaestudio_agroindustrial)

Monteiro, I., Passos, C., Marques, C., Santos, D., y Pereira, D. (2021). *Valorization of Pineapple Waste: a Review on How the Fruit's Potential Can Reduce Residue Generation*. *BioEnergy Research*. Retrieved 2023, from <https://doi.org/10.1007/s12155-021-10318-9>

Morales, X. (2013). *Los disolventes en la química verde. Proyecto de investigación para la obtención de Ingeniero Químico Industrial*. Instituto Politécnico Nacional. Escuela Superior .

Muñoz, W. C.-Á. (2015). Extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante a partir de Champa (*Campomanesia lineatifolia*). En *Revista CENIC. Ciencias Químicas* (pp. 38-46).

Otálora-Orrego, D., y Martin-G, D. (2020). Técnicas emergentes de extracción de b-caroteno para la valorización de subproductos agroindustriales de la zanahoria (*Daucus carota L.*): una revisión. *Informador Técnico*, 83-106.

Pac, P. (2005). *Experiencias en el cultivo de piña (Ananas comosus (L) Merr) con el híbrido MD2 en finca La Plata, Coatepeque, Quetzaltenango*. Guatemala: Universidad San Carlos de Guatemala. Facultad de Agronomía.

Penedo, B. (2021). *Ananas comosus L. Bio-waste as a potential source of phenolic compounds with food application*. Dissertation submitted to Escola Superior Agraria de Braganca to obtain the Degree of Master in Biotechnological Engineering. *Instituto Politécnico de Braganca. Escuela Superior Agraria*, 93.

Peralta, W., y Medina, C. (2021). *El papel de los residuos agrícolas en la extracción de nanocristales de celulosa*. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Pinelo, M., Fabbro, P., Manzocco, L., Nunez, M., y Nicoli, M. (2005). *Optimization of continuous phenol extraction from byproducts*. *Food Chemistry*, 92(1), 109–117. doi:10.1016/j.foodchem.2004.07.01

Pinto, M. (2012). *El cultivo de piña y el clima en el Ecuador*. Quito: Estudios e Investigaciones Meteorológicas INAMHI-Ecuador.

- Prasedya, E.; Frediansyah, A.; Martyasari, N.; Illhami, B.; Abidin, A.; Padmi, H.; Fahrurrozi; Juanssilfero, A.; Widyastuti, S.; Sunarwidhi, A. (2021). *Effect of particle size on phytochemical composition and antioxidant properties of Sargassum cristaefolium ethanol extract*. Scientific reports(11), 1-5. <https://doi.org/doi.org/10.1038/s41598-021-95769-y>.
- Rasgado, S., Trejo-Márquez, M., y Pascual-Bustamante, S. (2016). Extracción de fibra de residuos agroindustriales de piña para su aplicación en alimentos funcionales. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 448-453.
- Ravindra, R., y Subhajt, R. (2020). Comprehensive study of different extraction methods of extracting bioactive compounds from pineapple waste - A review. *The Pharma Innovation Journal*, 327-340.
- Roda, A., y Lambri, M. (2019). Food uses of pineapple waste and by-products: a review. . *International Journal of Food Science and Technology*. doi:101111/ijfs.14128.
- Salomón, S., Bermello, A., Márquez, T., López, O., González, M., y Llópiz, J. (2013). Extracción asistida por microondas de lípidos de las semillas de Cucubita pepo L. (calabaza). *Revista Cubana de Plantas Medicinales* , 17-26.
- Silva, J., Peralta, W., y Medina, C. (2021). Residuos agroindustriales como fuente potencial para la obtención de nanocelulosa. *The Ecuadorian Journal of S.T.E.A.M.*, 1(2), 1.
- Soto-García, M., y Rosales-Castro, M. (2016). Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de Pinus durangensis y Quercus sideroxylla. *Maderas. Ciencia y Tecnología*(18), 701-714.
- Spigno, G., Trameli, L., y De Faveri, D. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81, 200-208.
- Ti, L., Peiyi, S., Wei, L., Chengmei, L., Ruihong, L., Na, Y., y Jun, C. (2013). Major polyphenolics in ineapple peels and their antioxidant interactions. *International Journal of Food Properties*, 37-41.
- Trujillo, J. (2021). Caracterización de los residuos generados en el proceso de deshidratación de tres tipos de frutas. Riobamba: ESPOCH.

- Trujillo, J. (2021). *Evaluación de la capacidad antioxidante de extractos de la cáscara de piña (Ananas comosus), frente a un producto comercial*. Cuenca: Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca.
- UNLP. (2020). *Extracción de ingeniería química orgánica UNLP*. Retrieved 15 de 01 de 2021, from <https://docplayer.es/196447216-Extraccion-quimica-o-r-ganica-i-i-ngenie-r-i-a-quimi-ca-unl-p.html>
- Upadhyay, A., Prava, J., y Tawata, S. (2010). Utilization of pineapple waste: a review. Kagoshima: J. Food Sci. Technol. Nepal, Vol. 6.
- Valdés, A., Domingo, M., y Ponce, M. (2021). Potential of Industrial Pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merrill) By-Products as Aromatic and Antioxidant Sources. *Antioxidants*, 10.
- Vargas-Serna, C., Ochoa-Martínez, C., y Vélez-Pasos, C. (2022). Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Pineapple Peel Using Deep Eutectic Solvents *Horticulturae*.
- Vasco, C. (2009). *Phenolic compounds un ecuadorian fruits*. Quito: SLU. Faculty of natural resources adn agricultural sciences.
- Wilson, M. (2020). *Evaluación de la extracción asistida por ultrasonido de los polifenoles de un subproducto del procesamiento de mora*. . Facultad de Ciencias Agroalimentarias. Universidad de Costa Rica.
- Yahya, N., Wahab, R., y Shuh, T. (2019). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from pineapple skin. *Proceedings of the 2nd International Conference on Biosciences and Medical Engineering*, 1, 1-6.
- Zhu, M., Huang, Y., Wang, Y., Shi, T., Zhang, L., Chen, Y., & Xie, M. (2019). Comparison of (poly)phenolic compounds and antioxidant properties of pomance extracts from kiwi and grape juice. *Food Chemistry*.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.151>

## 5. ANEXOS

### ANEXO I. Resultados del Análisis Bromatológico de cáscara de piña liofilizada y molida

ID MUESTRA	Servicio/Analito	Resultado	Unidades	Método
CI-BR-22-23 (MUESTRA 1: TAMAÑO 0,25 mm)	Humedad	13,94	g/100 gmuestra	PE-7.2-01/AOAC 925.10
		14,02		
		14,15		
	Ceniza	3,62	g/100 gmuestra	PE-7.2-02/AOAC 923.03
		3,66		
		3,69		
	Extracto etéreo	2,43	g/100 gmuestra	PE-7.2-03/AOAC 920.85
		2,64		
		2,52		
	Proteína	4,59	g/100 gmuestra	PE-7.2-04/AOAC 2001.11
		4,52		
		4,44		
	Carbohidratos totales por diferencia	75	g/100 gmuestra	FAO
		75		
		75		
Valor calórico	342	Kcal	FAO	
	342			
	341			
Fibra cruda	13,4	g/100 gmuestra	INEM ICC113	
	14,1			
	13,2			
CI-BR-22-24 (MUESTRA 2: TAMAÑO 0,42 mm)	Humedad	14,09	g/100 gmuestra	PE-7.2-01/AOAC 925.10
		14,20		
		13,95		
	Ceniza	3,59	g/100 gmuestra	PE-7.2-02/AOAC 923.03
		3,58		
		3,61		
	Extracto etéreo	3,14	g/100 gmuestra	PE-7.2-03/AOAC 920.85
		3,39		
		3,35		
	Proteína	4,51	g/100 gmuestra	PE-7.2-04/AOAC 2001.11
		4,59		
		4,45		
	Carbohidratos totales por diferencia	75	g/100 gmuestra	FAO
		74		
		75		
Valor calórico	345	Kcal	FAO	
	346			
	347			
Fibra cruda	14,7	g/100 gmuestra	ICC113	
	15,3			
	15,7			

## ANEXO II. Análisis de Varianza de Compuestos Fenólicos solubles para todos los Tratamientos

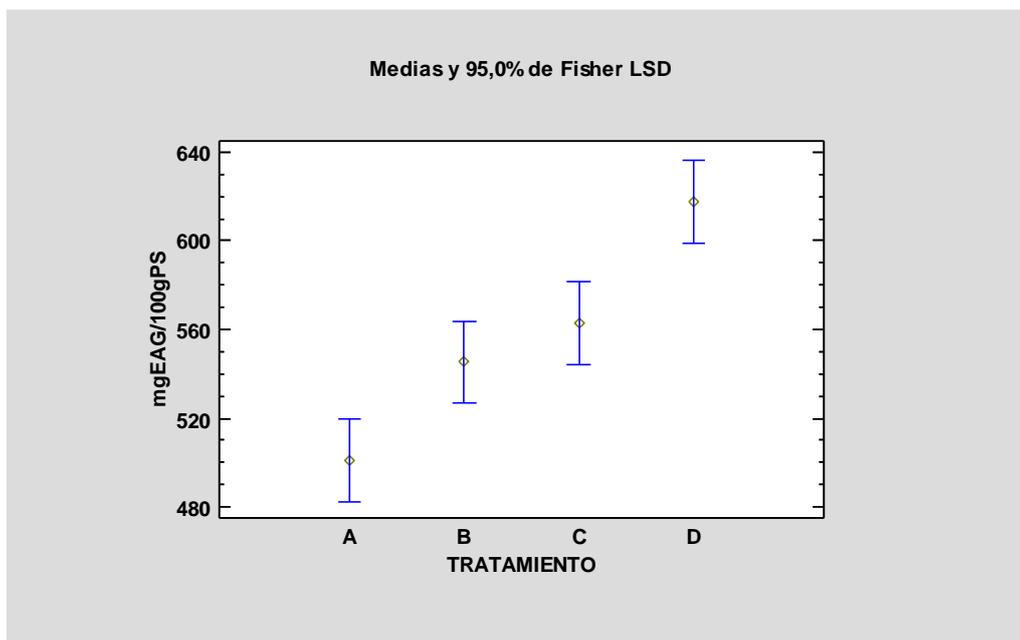


Tabla ANOVA para mgEAG/gPS por TRATAMIENTO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	21002,0	3	7000,68	17,96	0,0007
Intra grupos	3118,84	8	389,855		
Total (Corr.)	24120,9	11			

Análisis ANOVA para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Fuente: Software STATGRAPHICS

### ANEXO III. Análisis de varianza de actividad antioxidante para todos los tratamientos

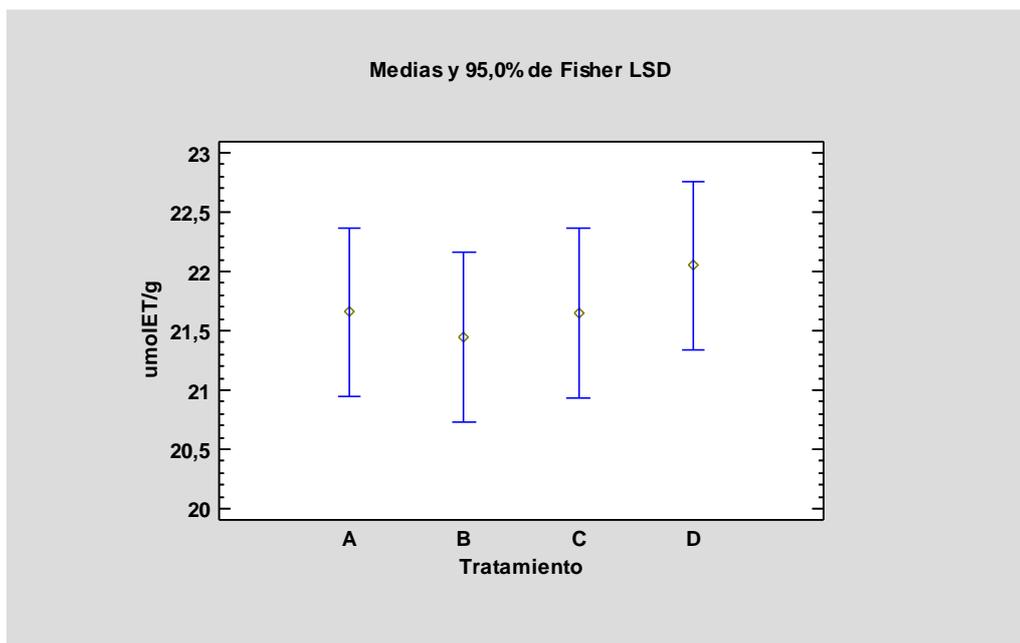
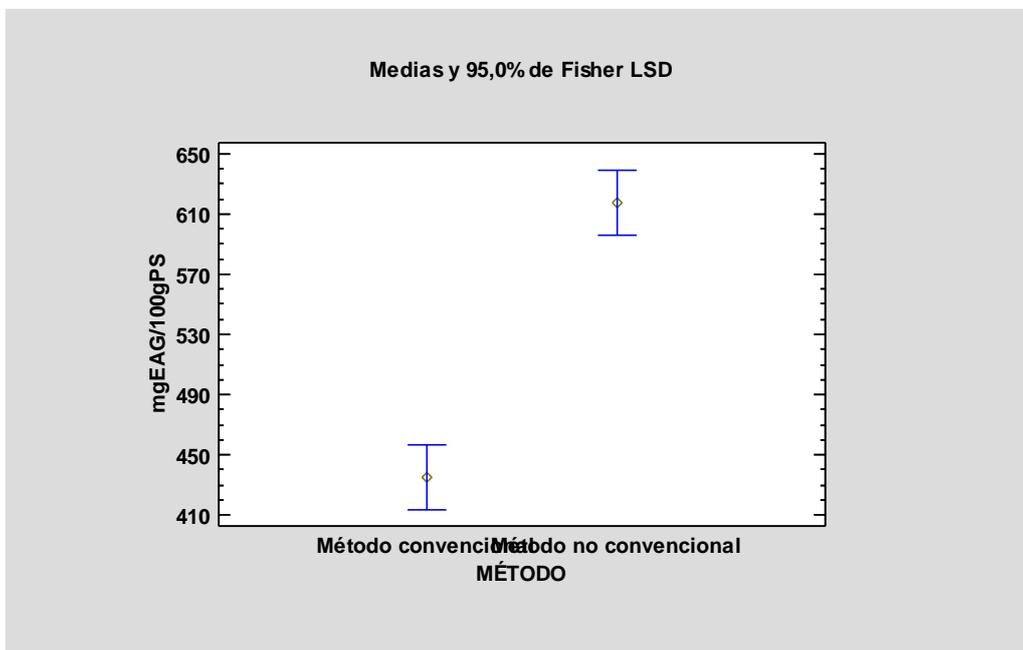


Tabla ANOVA para mgET/gPS por TRATAMIENTO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,565358	3	0,188453	0,33	0,8043
Intra grupos	4,57213	8	0,571517		
Total (Corr.)	5,13749	11			

Análisis ANOVA para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Fuente: Software STATGRAPHICS

## ANEXO IV. Análisis de Varianza de la Comparación de Fenoles Totales de los Métodos convencional y No convencional



Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	50270,1	1	50270,1	140,75	0,0003
Intra grupos	1428,6	4	357,149		
Total (Corr.)	51698,7	5			

Análisis ANOVA para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Fuente: Software STATGRAPHICS

## ANEXO V. Análisis de varianza de la comparación de actividad antioxidante de los métodos convencional y no convencional de extracción de compuestos fenólicos

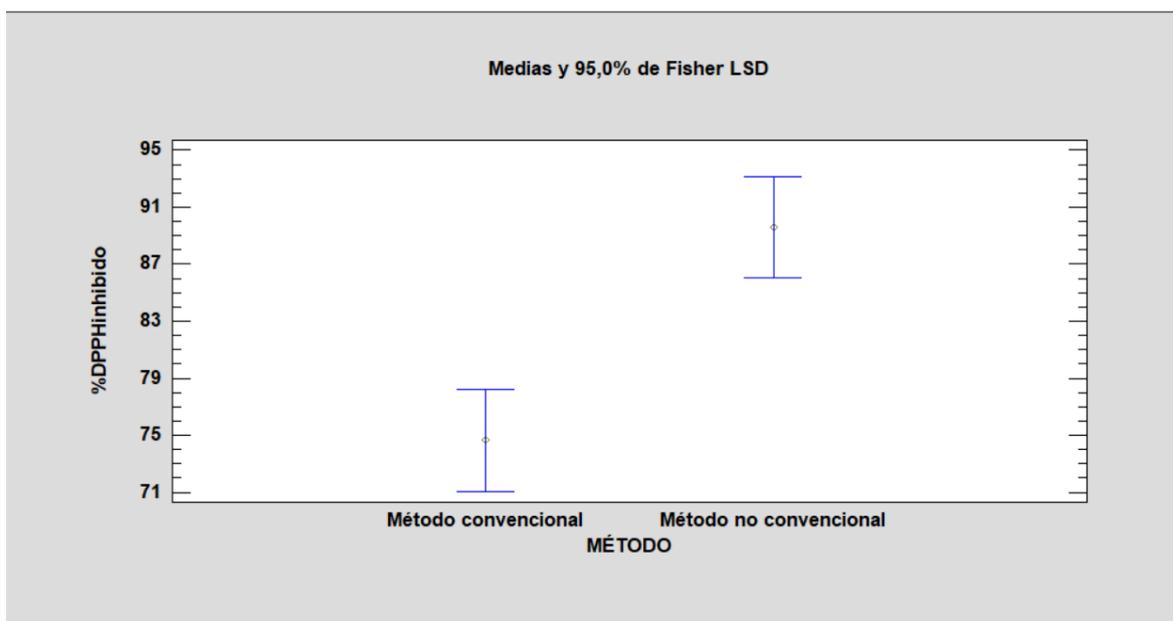


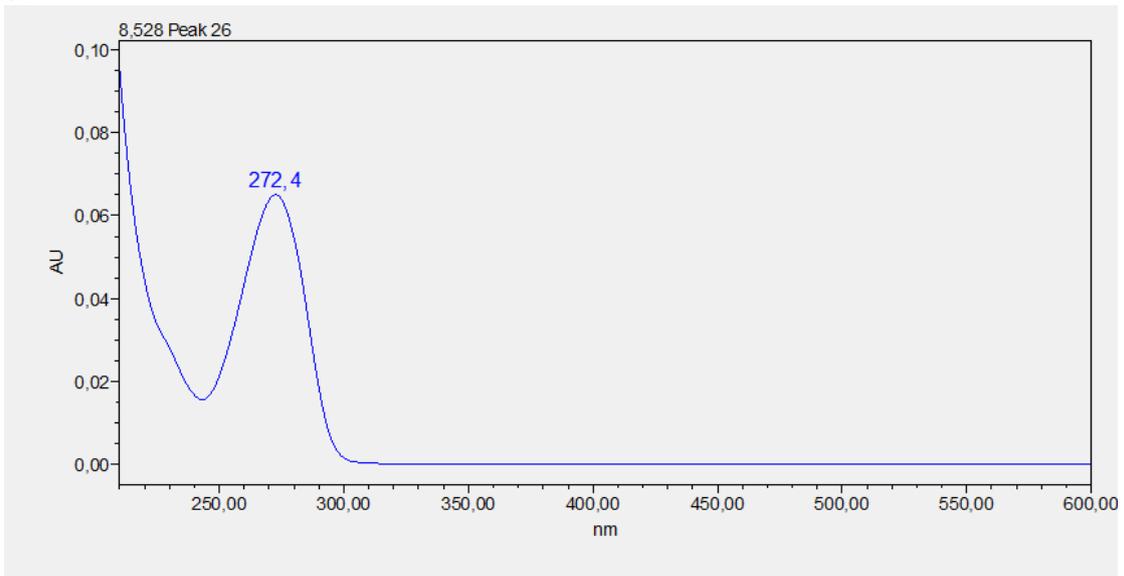
Tabla ANOVA para %DPPH inhibido por MÉTODO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	335,852	1	335,852	33,86	0,0043
Intra grupos	39,6751	4	9,91877		
Total (Corr.)	375,527	5			

Análisis ANOVA para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Fuente: Software STATGRAPHICS

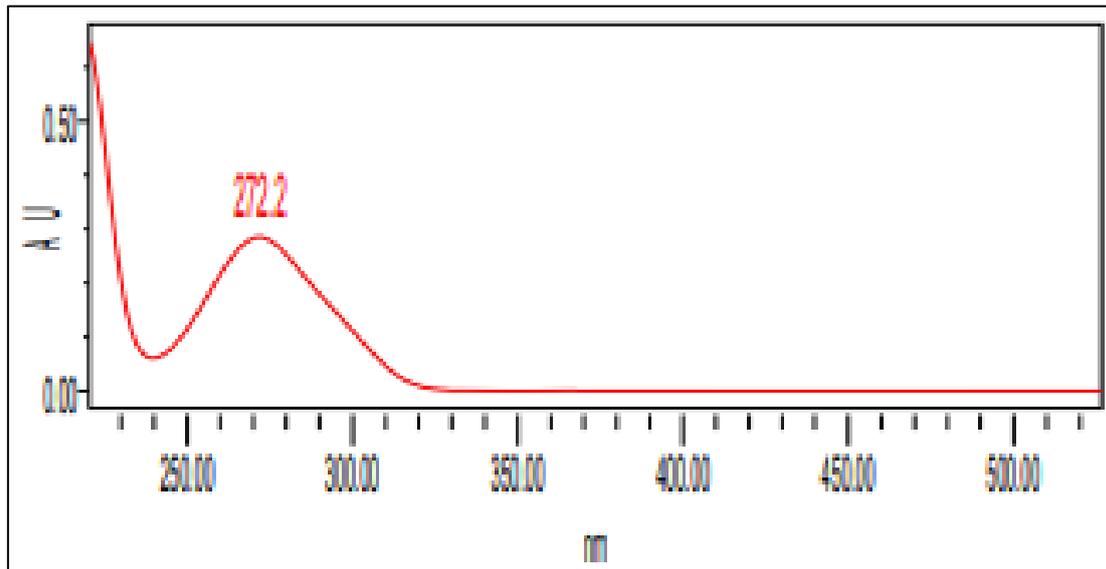
## ANEXO VI. Comparación Bibliográfica de Espectros de Ácido Gálico

a.



Espectro de ácido gálico obtenido del extracto metanólico de cáscara de piña.

b.

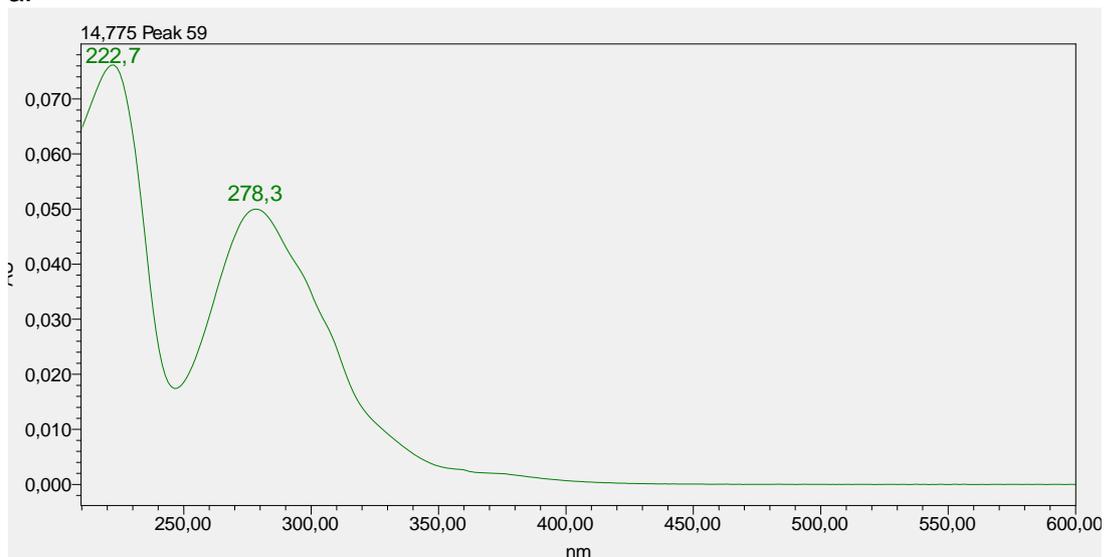


Espectro de ácido gálico.

Fuente: (Collado, 2011)

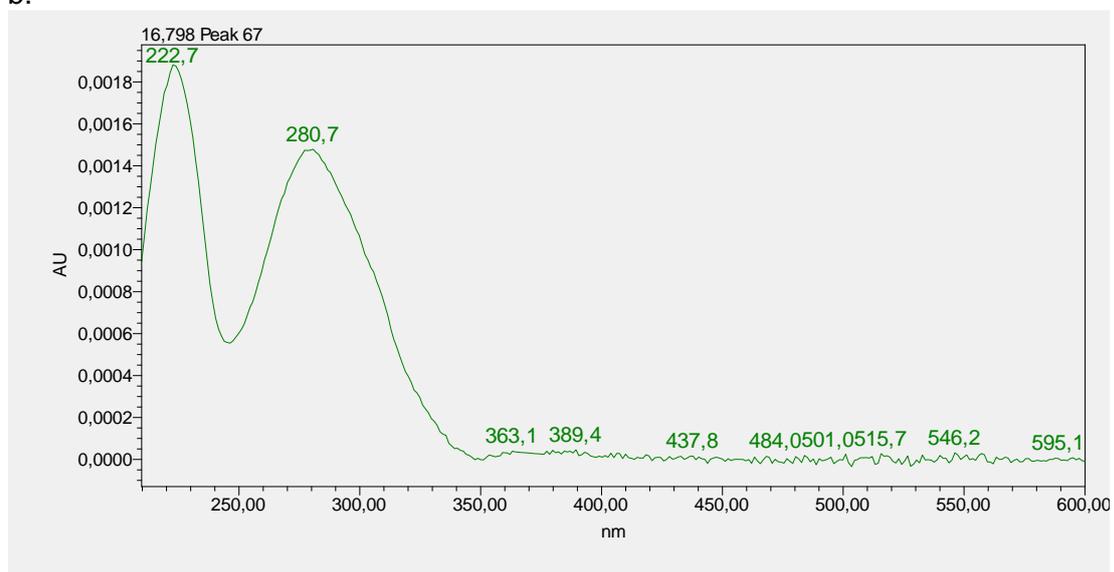
## ANEXO VII. Comparación Experimental de Espectros de Rutina

a.



Espectro de rutina del extracto metanólico de cáscara de piña.

b.



Espectro de rutina del mix de estándares (catequina, ácido caféico, epicatequina, ácido transferúlico, rutina, quercetina).